


NON MINISTRARI SED MINISTRARE.



Botanische Mikrochemie.

Eine Anleitung

zu

phytohistologischen Untersuchungen,

zum Gebrauch für Studirende

ausgearbeitet von

V. A. Poulsen.

Aus dem Dänischen unter Mitwirkung des Verfassers übersetzt

von

Carl Müller.

Cassel.

Verlag von Theodor Fischer.

1881.

Meinem lieben Lehrer

Docent Dr. phil. Eug. Warming

und

meinem hochgeehrten Freunde

Professor Dr. Leopold Kny

in innigster Dankbarkeit

vom Verfasser gewidmet.

Inhaltsübersicht.

Erster Abschnitt.

Zweiter Abschnitt.

Besondere Reagentien, Reaktionen und Methoden.

Vorwort.

Nur wenige Tage waren verflossen, seitdem ich das von meinem Freunde V. A. Poulsen verfasste Schriftchen in Händen hatte, als mir der Gedanke einer Uebertragung des Buches in's Deutsche aufstieg. Der Verfasser hatte freilich in seiner Bescheidenheit auf den Titel des Buches die Worte gesetzt: „Eine Anleitung zum Gebrauch für Studirende", und obgleich ich nicht in Abrede stellen konnte, dass das Buch gerade Studirenden von besonderem Nutzen sein möchte, so konnte ich mir doch auch andererseits nicht verhehlen, dass mancher in der Botanik Wohlerfahrene das Buch mit Vortheil handhaben könne. Das Buch wird, wie ich glaube, besser durch sich selbst sprechen, als wenn ich hier seine besonderen Vorzüge zusammenzustellen versuche. Nur auf eines möchte ich an dieser Stelle hingewiesen haben. Nach meiner Ansicht sollte dem Buche bald ein Plätzchen in den Schubladen der Arbeitstische botanischer Laboratorien eingeräumt werden, damit es dem Arbeitenden zu jeder Zeit zur Hand ist, ohne dass der Gang einer Untersuchung durch ein Nachschlagen in der weit zerstreuten Litteratur der botanischen Mikrochemie unterbrochen werden muss.

Was die Uebersetzung anbetrifft, so ist auf Wunsch des Verfassers ein Theil (und zwar der zweite) von ihm selbst in's Deutsche übertragen worden, wodurch ein

baldiges Erscheinen nach Herausgabe des dänischen Textes gesichert wurde; auch sind zahlreiche Ergänzungen von dem Verfasser V. A. Poulsen der deutschen Ausgabe hinzugefügt worden. In Bezug auf das von mir Uebertragene muss ich bemerken, dass es mir um eine möglichst wortgetreue Wiedergabe des dänischen Textes zu thun war, und nur da habe ich Satzconstructionen zu ändern gewagt, wo die wörtliche Uebersetzung dem deutschen Sprachgeiste allzu sehr zuwider gewesen wäre. Man wird daher oft das dänische Idiom heraushören; doch glaube ich gerade dadurch die Freunde des Buches erinnern zu können, dass sie eben das dänische Buch meines Freundes Poulsen lesen, nicht aber ein von mir verfasstes.

Indem ich schliesslich meinem verehrten Freunde Poulsen für die Bereitwilligkeit, mit welcher er mir die Uebertragung in's Deutsche gestattete, sowie für die mit der Uebersetzung des zweiten Theiles geleistete Hülfe hier öffentlich meinen wärmsten Dank ausspreche, empfehle ich das Büchlein dem Wohlwollen der deutschen Botaniker.

Carl Müller
(Berlin).

Vorwort.

Dieser kleine Versuch einer übersichtlichen Darstellung der wichtigsten mikrochemischen Reagentien und Methoden ist der erste, der in unserer dänischen Literatur vorliegt. Er ist auf Anrathen des Herrn Docenten Dr. phil. Eug. Warming ausgearbeitet, der oft bei den pflanzenanatomischen Uebungen mit den Studirenden im botanischen Garten den Mangel eines kurzgefassten Leitfadens für die Mikrochemie gefühlt hat; ich verdanke dem Herrn Docenten Warming viele werthvolle Winke, für welche es mir eine angenehme Pflicht ist, hier meinen aufrichtigen Dank abzulegen.

Auch Herrn R. Pedersen, Docenten der Pflanzenphysiologie an der hiesigen Universität, bin ich für viele kritische Bemerkungen sehr dankbar.

Sollten die in der Mikroskopie Unerfahrenen wenigstens einige nützliche Aufschlüsse aus dieser Darstellung erholen können, so habe ich meinen Zweck erreicht.

Rosenvaenget, im Oktober 1880.

V. A. Poulsen

(Kopenhagen).

Einleitung.

In den letzten Jahren hat sich die Technik der Mikroskopie zu einer in ihren ersten Tagen ungeahnten Höhe entwickelt. Die Vervollkommnung des Mikroskops, dieses merkwürdigen Instrumentes, mit dessen Hilfe so viele schöne und wichtige Entdeckungen gemacht sind, hat uns einen Einblick in die Naturgeschichte der Zelle eröffnet, welcher dazu auffordern musste, mit allen Hilfsmitteln die Elementarorgane der Organismen so weit, als wir dazu im Stande sind, auszuforschen; das Spektroskop, das Polariskop, die Induktionsrolle, die drei mächtigen Waffen, die Bunsen, Huygens und Faraday uns in die Hand gegeben haben, haben hinzutreten und das Leistungsvermögen dieses Werkzeugs vergrössern müssen, welches Hans und Zacharias Janssen zuerst hergestellt haben, und selbst die Photographie hat in der neuesten Zeit sich zu diesem Zwecke verwenden lassen müssen. So hat die Physik dahin gestrebt, diesen Apparat in einen so vollkommenen Zustand, als es nur möglich ist, zu bringen; es ist der Chemie überlassen, Mittel zu finden, die Gegenstände, welche wir untersuchen, so geeignet als möglich zur Wahrnehmung und zum richtigen Verständniss zu machen; mit anderen Worten, wenn wir gleichzeitig mit der Ausnutzung des optischen Apparates Aufklärung von einer wohlentwickelten Methode der chemischen Analyse holen können, müssen wir alle in das Gebiet des Erreichbaren liegenden Fragen beantworten können.

Diese Analyse, angewandt auf Gegenstände unter dem Mikroskop, ist das, was wir mit dem Namen Mikrochemie bezeichnen.

In nachfolgender Darstellung habe ich versucht, den Leser bekannt zu machen mit den wichtigsten in der Mikrochemie gebrauchten Reagentien, d. h. mit den Stoffen, durch

deren Einwirkung auf die vorgelegten Objekte, deren chemische Zusammensetzung und Natur, zuweilen auch deren physische Struktur sich aufklären lässt. Im ersten Abschnitt habe ich die im Laboratorium angewandten Chemikalien behandelt, im zweiten die Pflanzenstoffe selbst und die Reaktionen auf dieselben.

Die Richtigkeit der aufgeführten Angaben stützt sich betreffs der meisten Stoffe auf langjährige Erfahrung theils meines verehrten Lehrers, des Dr. Warming, theils meiner selbst; ausserdem habe ich Aufzeichnungen aus Uebungen und Vorlesungen von Prof. Hanstein in Bonn, welche Dr. Warming mir gütigst zur Verfügung gestellt hat, benutzen können, und endlich sind die in einer nicht unbedeutenden, sehr zerstreuten Litteratur niedergelegten Erfahrungen und Methoden selbstverständlich in so grossem Umfange benutzt, als es mir möglich gewesen ist; aber es sei ferne von mir, zu meinen, dass ich die Litteratur hätte erschöpfen sollen. Eben so wenig habe ich danach gestrebt, alle bis dato angewandten Chemikalien aufzunehmen; nur die wesentlichsten zu sammeln ist meine Absicht gewesen.

Am Schlusse des ersten Abschnitts habe ich einen kleinen Abschnitt über Einlegemassen für solche Präparate, welche man lange Zeit aufzubewahren wünscht, eingeschaltet. Hieran habe ich ein paar Worte über Einkittungslacke geknüpft.

So verführerisch es auch war, an die gegebene Darstellung eine Uebersicht über die historische Entwickelung der Mikrochemie anzuknüpfen, habe ich doch geglaubt, dass es das Richtigste wäre, eine solche wegzulassen, theils aus Rücksicht auf die Grösse des Buches, theils, weil diese mehr in ein theoretisches und umfassendes Lehrbuch gehört, als in einen kurzgefassten, zu rein praktischem Gebrauch abgefassten Leitfaden.

Verzeichniss der wichtigsten zur Bearbeitung des Buches benutzten Schriften.

Bachmann: Leitfaden zur Anfertigung mikroskopischer Dauerpräparate. München. 1879.

De Bary: Morphologie u. Physiol. der Pilze, Flechten u. Myxomyceten.— Hofmeisters Handbuch, II. Bd. 1ste Abth.

De Bary: Vergleichende Anatomie. — Hofmeisters Handbuch, III. Bd. 1877.

Behrens: Die Nectarien der Blüthen. — Flora, 1879.

Bonnier: Les Nectaires. — Ann. des sciences nat. 1879. VI. sér. Tome 8.

Burgerstein: Sitzungsber. der Wiener Akademie, Bd. 70, p. 338; 1874.

Dippel, Leop.: Das Mikroskop. I und II. 1869.

,, : Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhülle. 13 Taf. 1878.

Eriksson: Om Meristemet i dicotyla växters rötter. — Lunds Universitets årsskrift, tome XIII, 1877; p. 10.

Fritsche: Ueber den Pollen. — Mém. de l'Acad. des sciences de St. Pétersbourg. 1837.

Hanstein: Die Milchsaftgefässe und verwandte Organe der Rinde. 1864.

,, : Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen. 1868.

,, : Organe der Harz- u. Schleimabsonderung in den Laubknospen.— Bot. Zeitg. 1868.

Hartig, Th.: Botanische Zeitg. 1856, p. 262.

,, : Entwickelungsgeschichte des Pflanzenkeimes. Leipzig. 1858.

,, : Der Füllkern etc. — Karstens Bot. Untersuchungen I, 1867.

Hegelmaier: Bau u. Entw. einiger Cuticulargebilde. — Pringsheims Jahrb. IX.

Hegelmaier: Vergl. Untersuchungen über Entw. dikot. Keime. 1878, p. 11.
Hofmeister: Die Pflanzenzelle. — Handb. d. physiol. Bot. I Bd. 1867.
v. Höhnel: Ueber Kork u. verkorkte Gewebe überhaupt. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1877. 1ste Abth. Bd. 76.
Johow: Zellkerne der höheren Monocotylen. — Diss. Bonn, 1880.
Kabsch: Chemische Beschaffenheit d. Pflanzengewebe. — Pringsh. Jahrb., III, 1863, p. 357.
Kaiser: Zeitschrift für Mikroskopie. I Bd. 1877—78.
Karstens: Gesammelte Beiträge zur Anatomie u. Physiologie der Pflanzen. I, 1865. p. 253.
Koch: Verfahren zum Conserviren u. Photographiren der Bacterien. — Cohns Beitr. zur Biologie der Pflanzen II, p. 399.
Maschke: Pigmentlösung als Reagenz bei mikroskopisch-physiol. Untersuchungen. — Botan. Zeitg. 1859. p. 51.
Meyen: Anatom.-physiol. Untersuchungen über den Inhalt der Pflanzenzellen. Berlin 1828.
Mohl, Hugo v.: Vermischte Schriften botanischen Inhalts. Tübingen, 1845.
Müller, N. I. C.: Untersuchungen über d. Vertheilung der Harze etc. im Pflanzenkörper. — Pringsheims Jahrb. V, p. 397.
„ : Handbuch der Botanik. I: Allgem. Botanik, 1ster Theil: Anatomie u. Physiol. der Gewächse. Heidelberg, 1880.
Naegeli, C.: Die Stärkekörner. Zürich, 1858.
Naegeli, C., u. *Schwendener:* Das Mikroskop, 1877, 2te Aufl.
Planeth, H.: Mikrochemische Analyse der vegetabilischen Zelle. Promotionsschrift an der Univers. Rostock. 1873.
Pfeffer: Die Proteïnkörner. — Pringsh. Jahrb. VIII, 1872.
Pfitzer: Die Bacillariaceen. — Hansteins Bot. Abhdl. I. 2tes Heft. 1871.
Pringsheim: Untersuchungen über das Chlorophyll. IV: Das Hypochlorin. Monatsber. der Berl. Akad. November. 1879.
Radlkofer: Krystalle proteïnartiger Körper. 1859.
Ranvier: Traité technique d'histologie. Paris. 1877.
Robin: Traité du microscope. Paris. 1877.
Russow: Vergl. Unters. über Leitbündelkryptogamen. — Mém. de l'Acad. d. sc. de St. Pétersbourg. VII. sér. Tome XIX, no. 1, 1872.
Sachs: Keimung der Gräser. — Keim. der Dattel. — Botan. Zeitg. 1862.
„ : Ueber die Stoffe, welche das Material zum Wachsthum der Zellhaut liefern. — Pringsh. Jahrb., III., 1863.
Sachs: Lehrbuch der Botanik, 4te Ausgabe, 1874.

Sachsse, Rob.: Chemie u. Physiol. der Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteïnsubstanzen. Leipzig, 1877.

Sanio: Botanische Zeitg. 1860 und 1863, verschiedene Abhandlungen.

„ : Anatomie der Kiefer. — Pringsh. Jahrb. IX, 1873—74.

Schacht, H.: Die Pflanzenzelle, 1852.

„ : Das Mikroskop, 1855.

„ : Anatomie u. Physiologie der Gewächse, I, 1856.

„ : Ueber den Bau einiger Pollenkörner. — Pringsh. Jahrb. II, 1860, p. 109.

Schimper, A.: Untersuchungen über Proteïnkrystalloïde der Pflanzen. Strassburg, 1879.

Schmitz, Fr.: Beobachtungen über die vielkernigen Zellen der Siphonocladiaceen. Halle, 1879.

Strasburger: Befruchtung u. Zelltheilung. 1878.

„ : Studien über Protoplasma. 1876.

„ : Zellbildung u. Zelltheilung. Jena. 1875; und III. Aufl. 1880.

Tangl: Das Protoplasma der Erbse. — Sitzungsber. der Wiener Akad. 1877—78. Bd. 26 und 28.

„ : Communication zw. d. Zellen des Endosperms. — Pringsh. Jahrb. XII, 1880.

Treub: Méristème primitif de la racine dans les Monocotylédones. Leide, 1876.

„ : Sur le rôle du noyau dans la division des cellules. 1878.

„ : Sur des cellules végétales à plusieurs noyaux — Archives Néerlandaises. T. XV. Separat p. 15.

Vogl: Anatomie und Histologie der unterirdischen Theile von Convolvulus arvensis. — Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. XIII, 1863, p. 257.

„ : Bau des Holzes von Ferreira spectabilis. — Pringsheims Jahrb. IX. 1873—74.

Vries, Hugo de: Keimungsgeschichte des rothen Klees. — Landwirthschaftliche Jahrbücher. 1877. VI. Bd.

Weiss: Die Pflanzenhaare. — Karstens Bot. Untersuchungen, I, 1867.

„ : Allgemeine Botanik, I Bd. 1878.

Wiesner: Technische Mikroskopie. Wien, 1867.

„ : Anatomisches u. Histochemisches über das Zuckerrohr. — Karstens botan. Untersuchungen, I, 1867.

„ : Das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur Zellmembran. — Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1878. I. Abth.

Wigand: Intercellularsubstanz u. Cuticula. 1850.

Litteratur, die in Pflanzen vorkommenden Farbstoffe betreffend.

(Arbeiten über spektroskopisches und weiteres optisches Verhalten sind weggelassen.)

Askenasy: Botan. Zeitg. 1867, p. 227.
„ : Botan. Zeitg. 1869, p. 785.
R. Brown Cmstr.: Manual of Botany, p. 589.
Cohn: Bot. Zeitg. 1867, p. 38.
Frémy: Annales des sciences nat. 1860, T. XIII.
Hildebrandt: Die Farben der Blüthen. — Pringsh. Jahrb. III.
Kützing: Phycologia generalis, p. 17 ff.
Millardet: Comptes rendus de l'Acad. 1869. (Cfr. Bot. Zeitg. 1869, p. 332.)
N. I. C. Müller: Handb. d. Bot. I. Bd., Allgem. Bot. 1. Theil, 1880, p. 562.
Naegeli u. Schwendener: Das Mikroskop, 1877, p. 528.
Prantl: Botanische Zeitg. 1871, p. 619.
Pringsheim: Monatsber. d. Berliner Akad. October 1874, December 1875.
Rosanoff: Mém. de la soc. de Cherbourg. XIII, 1867.
„ : Botan. Zeitg. 1866, p. 182.
R. Sachsse: Die Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteïnsubstanzen. Leipzig, 1877.
Timirjaseff: Das Chlorophyll. 1871.
Trécul: Annales des sc. nat. IV. sér. Tome X. 1858.
Weiss: Allgemeine Botanik, I, 1878, p. 106—38.
Wiesner: Botan. Zeitg. 1862.
„ : Flora, 1874.

Ausser den in obenstehendem Litteraturverzeichnisse aufgeführten Arbeiten sind in Menge andere benutzt, welche man in dem speciellen Litteraturverzeichnisse im Text selbst suche.

Erster Abschnitt.

Die mikrochemischen Reagentien

und

deren Anwendung.

Anhang:

Einlegemittel und Einkittungsmassen.

1) **Jod** [Jodum resublimatum].

Eines der im Dienste der Botanik am aller zeitigsten benutzten mikrochemischen Reagentien ist das Jod,[1]) und noch heutzutage muss es als eines der unentbehrlichsten Hilfsmittel der Mikroskopie angesehen werden.

Es wird nicht in festem, sondern in gelöstem Zustande angewandt; Auflösungsmittel sind entweder Wasser, Alkohol oder eine Auflösung von Jodkalium in Glycerin, Chlorzink oder Wasser. Die Concentration der Lösung richtet sich nach dem augenblicklichen Bedarf; oft sind die Wirkungen von nur ziemlich schwachen Auflösungen sehr in die Augen fallende. Nach dem Auflösungsmittel benennt man die verschiedenen Jodpräparate: Jodalkohol, Jodglycerin, Jodjodkalium, Jodwasser und Chlorzinkjod.

Zum Nachweise von Stärke (amylum) ist das Jod ein vortreffliches Mittel und das einzig sichere, welches man hat. Jedes Jodpräparat, das nur minimale Mengen von freiem

---

[1]) *Naegeli*: Das Mikroskop. 1877, pag. 473.
Dippel: Das Mikroskop. 1872, p. 273.
Sachs: Pringsh. Jahrb. III. 1863.
Mohl: Vermischte Schriften. 1845, p. 335.
Hofmeister: Handbuch. I, Pflanzenzelle. 1867, p. 252 und 387.
Weiss: Allgemeine Botanik, I. 1878, p. 18, 77, 159.
Schleiden: Wiegmanns Archiv. 1838, p. 59, 39.
Raspail: Développement et analyse microscopique de la fécule. Ann. des sc. nat. I sér. Tome VI, p. 388.
Meyen: Untersuchungen über den Inhalt der Pflanzenzellen. Berlin. 1828, p. 21.
Sachs: Lehrbuch. 1874, p. 34, 40, 58.

Jod enthält, ist im Stande, dieses Kohlenhydrat nachzuweisen, doch nur, wenn die Stärkekörner gleichzeitig Wasser enthalten.

Bei Anwendung der wasserhaltigen Jodpräparate ist die Gegenwart von Wasser schon hiermit gegeben; benutzt man aber absoluten Jodalkohol, so muss solches hinzugesetzt werden.

Die Reaktion, welche von Stromeyer entdeckt ist, ist bekannt.[1]) Die Stärkekörner nehmen je nach der Grösse der Jodmenge und nach der Dauer der Einwirkung mehr oder minder tiefe, dunkelblaue Farbe an, welche bei Erwärmung des Präparats verschwindet, aber bei der Abkühlung wiederkehrt; sie kann auch gänzlich weggenommen werden mit einer Auflösung von unterschwefligsaurem Natron. Wird trockenes Amylum mit Jodchloroform oder wasserfreiem Jodalkohol übergossen, so werden die Körner langsam braun; folglich haben wir in der Stärke ein gutes Mittel zur Nachweisung der Wasserhaltigkeit des Alkohols. Naegeli zufolge sind die Amylumkörner aus Stärkecellulose und Granulose zusammengesetzt; die letztere Kohlenstoffverbindung ist es, auf welche das Jod einwirkt; nach dem Ausziehen derselben (was durch Digeriren mit Speichel bei 45—55 ^{0} C. geschehen kann; ferner durch Einwirkung von Pepsin, Diastase, organische Säuren oder durch jahrelange Einwirkung von verdünnter Schwefel- oder Salzsäure), werden die Körner von Jodauflösungen gelb oder braun gefärbt.

Die meisten Cellulosemembranen werden von Jod gelb oder bräunlich gefärbt, namentlich von einer frisch zubereiteten Auflösung. Hiervon machen jedoch die Paraphysen und Ascuswände (das Hymenium) der Flechten eine Ausnahme; sie nehmen oft, wie Stärke, eine blaue Farbe an.

---

[1]) *Naegeli:* Die Stärkekörner. Zürich, 1858.
Wiesner: Technische Mikroskopie. 1857, p. 73.

Lässt man dagegen erst starke Schwefelsäure, concentrirte Phosphorsäure oder eine wässerige Chlorzinkauflösung [siehe unten] auf die Zellhaut wirken, so wird diese schön blau; die Cellulose wird nämlich durch die Einwirkung der genannten Stoffe in Amyloid [1]), einen mit der Stärke verwandten Stoff, übergeführt. Auch Jodwasserstoffsäure zeigt diese Reaktion, und aus diesem Grunde färben ältere Jodauflösungen sehr oft die Zellhaut sofort blau, da sich durch Einwirkung des Wassers oder des Alkohols Jodwasserstoffsäure in der Flüssigkeit entwickelt hat. Lässt man eine Cellulosemembran mit einer Jodauflösung eintrocknen, so wird sie beim Befeuchten mit Wasser oft blau, da der organische Stoff Jodwasserstoffsäure-Entwickelung hervorgerufen hat. Die schleimgebenden Epidermismembranen vieler Samen und Perikarpien nehmen mit Jod erst eine blaue Färbung an, wenn die Aufquellung in der wässerigen Lösung einen gewissen Grad erreicht hat, und es ist kein seltener Fall, dass eine in Jod liegende Membran im Laufe einer kürzeren oder längeren Zeit verschiedene Farbennüancen durchläuft. Die meisten der Reagentien, welche mit Jod zusammen Blaufärbung der Membranen bewirken, bringen diese zum Quellen, ungefähr in folgender, steigender Reihenfolge: Jodkalium, Jodzink, Salpetersäure, Phosphorsäure, Kalilauge, Jodwasserstoffsäure, Schwefelsäure.

Wir haben also in Jod + einem amyloiderzeugenden Stoffe ein vortreffliches Reagens auf reine Cellulose.

Wird eine Membran bei Behandlung mit Schwefelsäure und Jod nicht blau, so ist sie durchdrungen von anderen Stoffen, oder muss, chemisch gesprochen, als verändert angesehen werden. So ist es der Fall mit den Holzzellen und

---

[1]) Mit dem von den Zoohistologen ebenso genannten Stoffe nicht zu verwechseln.

Gefässen, mit den Zellhäuten des Korkes und gewöhnlich auch der Wurzelscheide; die von diesen aufgenommenen Stoffe (Lignin, Suberin) müssen erst entfernt werden durch wechselnde Behandlung mit Säuren und Alkalien und nachfolgende Auswaschungen mit Alkohol, Aether oder Chloroform, ehe die Cellulosereaktion deutlich hervortritt; aber noch hat man keine Membran gefunden, selbst nicht die Kieselpanzer der Diatomeen ausgenommen, welche sich nicht als cellulosehaltig erwiesen hätte.

Bei der Untersuchung von Flechten spielen die chemischen Reagentien eine wesentliche Rolle.[1] Die gewöhnlich angewandte Jodauflösung besteht aus 5 Ctgr. Jod, 20 Ctgr. Jodkalium und 15 Grm. destillirten Wassers. Dünne Schnitte des Sporenlagers werden in der Regel blau gefärbt, der Markschicht bisweilen, die des Laubes seltener. Auch eine weinrothe Farbe kann auftreten, welche darauf deutet, dass diese Membranen eine von anderen verschiedene Zusammensetzung haben.

Was den Protoplasmakörper der Zellen angeht, so gilt für das erste, dass alles lebende Protoplasma von Jod getödtet wird, und dass dieses dann sehr schnell aufgenommen wird, wodurch das Protoplasma kräftig braun gefärbt wird. Dies gilt namentlich von den Zellkernen und Chlorophyllkörnern sowie der stickstoffhaltigen Grundmasse der Proteïnkörner, zu deren Nachweisung eine nicht allzu verdünnte Auflösung sehr anwendbar ist. Eine äusserst geringe

---

[1]) *Deichmann-Branth u. Rostrup*: Lichenes Daniae, p. 17.
De Bary: Morphol. u. Physiol. der Pilze, Flechten u. Myxomyceten. Hofmeisters Handbuch, II. 1866, p. 281.

[2]) *Sachs*: Lehrb. 1874.
Weiss: Allgem. Bot. I. 1878.
Tangl: Protoplasma der Erbse. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1877—78. Bd. 76—78.

Jodmenge tödtet das Protoplasma sofort; zu deutlicherer und leichterer Wahrnehmung von Bacterien und der Flimmerhaarbekleidung dieser und anderer Mikroorganismen ist das Jod deswegen sowohl wie durch seine färbenden Eigenschaften ein vortreffliches Mittel. Beim Studium der Proteïnkörner ist das Jodglycerin namentlich sehr anzuempfehlen, da es zugleich klärend auf die Körnermasse wirkt.

In den Chlorophyllkörnern wird die Stärke[1]) mit Hilfe des Jodes sehr leicht nachgewiesen, indem man hinreichend feine Schnitte, welche man vorher mit Alkohol oder mit Kaliumhydroxyd und Essigsäure behandelt hat, in Jodjodkalium untersucht; das aufquellende Amylumkorn nimmt alsdann eine deutlich blaue Farbe an.

Alle Präparate, welche mit Jod gefärbt sind, verlieren die Farbe mit der Zeit. Die in der Mikrochemie gebräuchlichen Jodauflösungen müssen im Dunkeln aufbewahrt werden, damit nicht die Einwirkung des Lichtes zu schnell die Jodwasserstoffsäureentwickelung hervorrufe.

Beim Ueberführen von Schnitten oder von anderen Präparaten von Wasser in starken Jodalkohol, werden oft kleine, schwarze, rhombische Krystalle von ausgefälltem Jod in der Flüssigkeit ausgeschieden.

Die sogenannten Krystalloide bestehen aus Proteïnstoffen und werden demzufolge mit Jod gelb. Dasselbe ist auch der Fall mit dem Inulin; aber hier beruht die Färbung nicht auf einer wirklichen Aufnahme des Jodes, sondern nur auf einer Condensirung der braunen Flüssigkeit in den feinen Spalten der Sphaerokrystalle.

---

[1]) *Sachs*: Pringsheims Jahrb. 1863, III, p. 200. — Flora 1862; p. 166. *Weiss*: Allgem. Bot. I, 1878, p. 111.

2) Chlorzinkjod.

Bereits im vorhergehenden Abschnitt haben wir eine mit Chlorzink zubereitete Jodauflösung[1]) besprochen und können nun näher auf dieselbe eingehen.

Man bereitet sich dieses Präparat zu durch Auflösen von Zink in reiner Salzsäure, Eindampfen zur Schwefelsäureconsistenz unter stetigem Berühren mit metallischem Zink, Zusetzen von soviel Jodkalium, als aufgelöst werden kann, und löse in dieser Mischung soviel metallisches Jod, als sie aufnehmen will.[2]) Das Reagens ist hiermit fertig; seine Farbe muss rothbraun sein, es muss nach Jod riechen und mit der Zeit kleine Krystalle von reinem Jod ausscheiden. Man bewahre es in einer dunklen Flasche, da das Licht sonst Jodwasserstoffsäure-Entwickelung in derselben hervorruft, was bei diesem Präparat jedoch nicht eine so grosse Bedeutung wie bei anderen mikrochemisch angewandten Jodstoffen hat.

Das Chlorzinkjod ist ein ausgezeichnetes Mittel zur Nachweisung von reiner Cellulose, da sein einer Bestandtheil, das Chlorzink, daraus Amyloid erzeugt, welches von dem freien Jod sofort blau oder violett gefärbt wird. Zellhäute, welche eine Metamorphose der Cellulose sind, werden nicht blau gefärbt; Holzzellen und Gefässe, Korkzellen und die Wurzelscheide sowohl wie die cuticularisirte Schicht in den Epidermiszellen, die Exinen der Pollenkörner und der Sporen,

---

[1]) *Naegeli*: Verhalten der Zellhaut zum Jod. Sitzungsber. d. bayr. Akad. der Wiss. 1863, p. 383. — Ferner: Das Mikroskop. 1877, p. 474. *Mohl*: Blaue Färbung der vegetab. Zellmembr. durch Jod. Flora. 1840. Ausserdem die oben citirten Schriften und Abhandlungen.

[2]) Die von *Grönland*, *Cornu* und *Rivet* angegebene Darstellungsweise ist unrichtig; gerade das Wesentlichste, nämlich das Jod, fehlt merkwürdiger Weise. [Des préparations microscopiques. Paris, 1872, p. 75.]

sowie lignin- und suberinhaltige Membranen werden gelb; die eigentliche Cuticula wird nicht gefärbt. Amylum wird blau gefärbt, aber die Körner schwellen schnell auf und werden zerstört. Die aus der sogenannten Pilzcellulose bestehenden Zellmembranen (Hyphenwände) der Pilze werden sonderbarer Weise nicht gefärbt.[1]) [Auch nicht mit Jod und Schwefelsäure.]

Als Reagens auf Gerbstoff wird sehr verdünntes Chlorzinkjod angewandt; der Inhalt gerbstoffhaltiger Zellen wird bei dieser Behandlung röthlich oder violett.[2])

3) **Kaliumhydroxyd** [Hydras kalicus, Aetzkali, Kalihydrat, Kalilauge].

Nächst den Jodpräparaten nehmen Kaliumhydroxydauflösungen einen sehr wichtigen Platz in der Reihe der mikrochemischen Hilfsmittel ein.[3]) Das im Handel vorkommende, sogenannte Kalihydrat wird in wässeriger oder alkoholischer Auflösung von verschiedener Concentration je nach den Umständen angewandt; eine mittelstarke Auflösung ist vorzuziehen, da sie sich jederzeit verdünnen lässt und eine concentrirte wohl schnell wirkt, aber auch schnell die Gewebe zerstört.

---

[1]) *Schacht*: Die Pflanzenzelle, p. 143 ff.
Hofmeister: Handbuch, I, die Pflanzenzelle, p. 258.

[2]) *Sanio*: Botan. Zeitg. 1863.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 375.

[3]) *Naegeli*: Das Mikroskop, 1877, p. 472 und 525.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 278.
Wiesner: Technische Mikroskopie, 1867; mehrere Stellen.
Sachs: Ueber die Stoffe, welche das Material der Zellhäute liefern. Pringsh. Jahrb. III. 1863.
„ Keimung von Allium Cepa. Bot. Ztg. 1863, Nr. 8—9.
„ Zur Keimungsgeschichte der Gräser. — Keimung der Dattel. Bot. Zeitg. 1862.

Die Zubereitung der wässerigen Kaliauflösung erfordert die Beobachtung der Vorsichtsmassregel, dass nicht allzu grosse Massen des Stoffes auf einmal dem Wasser zugesetzt werden, da die Flüssigkeit sich in hohem Grade bei der Lösung erwärmt.

Die spirituöse Auflösung, der Russow'sche Kali-Alkohol, wird auf folgende Weise zubereitet.[1])

Alkohol von 85—90 % wird mit einer wässerigen, concentrirten Kaliauflösung gemischt, bis ein Bodensatz ausgeschieden wird. Nach häufig wiederholtem Umschütteln wird die Flüssigkeit auf 24 Stunden hingestellt, worauf die klare, schwach gelbliche Flüssigkeit abgegossen wird und nun nach Verdünnung mit destillirtem Wasser zum Gebrauch fertig ist. Russow wendet zwei Verdünnungen an, nämlich 1 Theil dest. Wasser auf 2 oder auf 3 Theile gesättigter Auflösung.

Da Kaliauflösungen leicht Kohlensäure aus der Luft anziehen, müssen die Behälter wohl (mit Glasstöpseln) verpfropft sein; und da sie ferner leicht Krystalle im Flaschenhalse ausscheiden, müssen die Pfropfen häufig gelöst werden.

In der mikroskopischen Technik beruht die Anwendung des Kali auf den auflösenden und aufweichenden (d. h. die Einlagerung von Wasser bewirkenden) Eigenschaften. Es löst viele der kleinen Körnchen im Protoplasma, bleicht viele Farbstoffe, bildet mit Fettstoffen lösliche Seifen und bewirkt Aufquellen der Stärke, die das Gewebe besonders undurchsichtig macht. In Folge hiervon zerstört es die Protoplasmakörper der Zellen und macht diese klarer und durchsichtiger; es spielt daher in verdünntem Zustande eine grosse Rolle als „klärendes Mittel“ bei Untersuchungen über sonst

---

[1]) *Russow*: Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg. Sér. VII. Tome XIX, Nr. 1, p. 15, Anm.

undurchsichtige Schnitte, namentlich von Meristemen, indem es das Studium dickerer Gewebemassen zulässt, ja oft können ganze Organe klar werden [Embryonen, Haare, Schnitte von Wurzel- und Stengelspitzen, Eichen u. s. w.; ganze Stengel und Blätter bei Untersuchung des Gefässstrangverlaufs u. s. w.].[1])

Eine solche Methode ist von Hanstein vorgeschlagen. Die Schnitte werden erst mit Kaliauflösung behandelt, ausgewaschen und darauf mit Chlorwasserstoffsäure oder Essigsäure neutralisirt; werden sie dadurch zu dunkel, so können sie wieder nach Auswaschung in Wasser mit Ammoniakwasser geklärt werden, und wenn sie zu klar geworden sind, wird eine wässerige Alaunlösung helfen können. Bisweilen muss der Process ein Paar Mal wiederholt werden, ehe die gewünschte Wirkung eintritt. Nach Auswaschen mit destillirtem Wasser lassen sich die so behandelten Schnitte längere Zeit unverändert in Glycerin, das sie klarer macht, aufbewahren.

Der Russow'sche Kali-Alkohol wird zu gleichem Zwecke angewandt und ist in den meisten Fällen vorzuziehen; die Gegenwart des Alkohols bewirkt nämlich, dass die Zellhäute nicht so sehr aufquellen, wie sie bei dem Hanstein-schen Verfahren oft thun. Auch bei dieser Behandlungsweise kann die Essigsäure als Neutralisationsmittel und Glycerin als Einlegemedium angewandt werden. Stärke schwillt in Kali auf und wird zerstört; amylumhaltiges Gewebe (z. B. Sameneiweiss) kann daher mit Kalilauge geklärt werden.

---

[1]) *Hanstein*: Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen. 1868.

„ Entwickelung des Keimes. — In Botan. Abhandl. I, 1tes Heft, p. 5.

Koch: Cuscuta. In *Hanstein*: Bot. Abh. II, Heft 3, p. 25.

Oels: Anat. d. Droseraceen. Diss. Breslau. 1879, p. 13.

Die wässerige Kaliauflösung bewirkt ein Aufquellen der Zellhäute und lässt dadurch oft deren verschiedene Schichten und Schalen deutlicher hervortreten; dies ist besonders der Fall mit dem Collenchym.

Als Macerationsmittel, d. h. als Mittel zur Isolirung der Zellen, kann in vielen Fällen warme Kaliauflösung angewandt werden, da diese die Intercellularsubstanz auflöst.

Kali kann als Reagens auf Suberin[1]) angewandt werden. Werden nämlich dünne Schnitte von Korkgewebe stark in der genannten Flüssigkeit gekocht, so tritt das Suberin aus den Häuten in Form gelber, zusammenfliessender Tropfen aus.

Zellmembranen, welche wegen der Aufnahme der sogenannten inkrustirenden Stoffe nicht unmittelbar die Cellulosereaktionen zeigen, können mit Hilfe von kochendem Kali[2]) oft in Verbindung mit Salpetersäure u. a. von diesen befreit werden, so dass Chlorzinkjod- und Schwefelsäure-Jod-Reaktion deutlich eintreten. [Holzzellen, Gefässe u. a.]

In einzelnen Fällen lässt sich der Gerbstoff mit Kali nachweisen, indem die Zellen, worin sich solcher Gerbstoff, der von Eisensalzen grün gefärbt wird, findet, bei der Kalibehandlung gelb werden.

Als Reagens auf Chrysophansäure hat Borsčow[3]) das Kali eingeführt; die betreffenden Zellen werden hiermit purpurroth.

Sachs hat das Kali als analytisches Reagens bei verschiedenen physiologisch-histologischen Studien eingeführt,

---

[1]) *Höhnel*: Kork u. verkorkte Gewebe. Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1877, I. Abth., p. 16.

[2]) *Hofmeister*: Die Pflanzenzelle. Handbuch, I. Mehrere Stellen.

[3]) *Borsčow*: Botanische Zeitung. 1874, p. 20.
Weiss: Allgem. Botanik, I. 1878, p. 288.

indem es in Verbindung mit Kupfersulfat[1]) gute Reaktionen auf verschiedene Zuckerarten, Proteïnstoffe und Kohlenhydrate giebt. [Siehe unter schwefelsaurem Kupfer.]

Wird Protoplasma erst mit Salpetersäure und darauf mit verdünntem Kali (oder Ammoniak) behandelt, so wird es wegen der Entwickelung von xanthoproteïnsaurem Kali (oder Ammoniak) schön gelb gefärbt.[2])

Die sogenannten Krystalloide schwellen in Kali auf und verändern die Kantenwinkel; dadurch offenbaren sie ihre organische Natur.

4) **Ammoniak.** [Solutio ammoniaci. Salmiakspiritus.]

Eine Auflösung von Ammoniakgas in Wasser, das sogenannte Ammoniakwasser, wird in concentrirtem Zustande an vielen Stellen anstatt des Kali angewandt, wo dessen Wirkung zu gewaltsam ist.[3]) Ausserdem haben wir seine Anwendung bei der Hanstein'schen Gewebeklärungsmethode besprochen. (S. 11.)

Als Reagens auf Proteïnverbindungen, also auch auf Krystalloide, wird es in Verbindung mit der Salpetersäure (S. 17) angewandt, um die Farbe der Xanthoproteïnreaktion zu erhöhen. Wird ein feiner Schnitt durch dickwandiges Gewebe mit Salpetersäure und hierauf mit Ammoniak behandelt, so wird die „Mittellamelle“ [die Intercellularsubstanz] gelb gefärbt.[4])

---

[1]) Siehe die oben citirten Abhandlungen; ausserdem:
Hugo de Vries: Keimung des rothen Klees. Landwirthschaftliche Jahrb. VI. 1877, p. 468.

[2]) *Dippel*: Das Mikroskop, II, p. 10, 18.

[3]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 279.
Weiss: Allg. Bot. 1878, p. 77, 144.

[4]) *Dippel*: Mikr., II, p. 100.

Endlich wird es bei der Darstellung des Kupfersulfatammoniaks und des karminsauren Ammoniaks angewandt.[1])

Als Aufweichungsmittel für Herbarienmaterial, das mikroskopischer Untersuchung unterworfen werden soll, dürfte es am Platze sein, es anzuempfehlen; so bei der Untersuchung getrockneter Algen, Moose, Pollenkörner, Sporen u. s. w.; auch höhere Pflanzen können mit Vortheil auf diese Weise behandelt werden.

5) **Kupferoxyd-Ammoniak** [Cuoxamium (Cramer). Cupridiamin].

Dieses in der mikroskopischen Technik wichtige Reagens muss frisch zubereitet werden, wenn es angewandt werden soll, da es durch längeres Stehen zerstört wird; will man es auf einige Zeit aufbewahren, so muss es im Finstern geschehen.

Man fällt Kupferoxydhydrat aus einer Kupfersulfatauflösung mit Hilfe von verdünnter, wässeriger Natronlösung, filtrirt, wäscht aus, und löst es in starkem Ammoniakwasser, worin es sich mit einer prächtigen, dunkelblauen Farbe auflöst; diese Flüssigkeit ist alsdann zum Gebrauch fertig.

Es kann auch dargestellt werden, indem man Kupferdrehspähne mit 16 % Ammoniakwasser übergiesst und dies in offener Flasche stehen lässt. Es muss, ob es auf die eine oder die andere Art dargestellt ist, nur so lange benutzt werden, als es Baumwolle schnell auflöst.

Reine Cellulose wird nämlich unter starkem Aufschwellen, aber ohne sich zu Amyloid umzusetzen, aufgelöst. Zellmembranen, deren Wände von Holzstoff, Korkstoff u. a. inkrustirt sind, werden erst aufgelöst, nachdem diese Beimischungen durch das Schultze'sche Macerationsmittel fortgeschafft sind.

---

[1]) Siehe den Abschnitt über Färbemittel.

Die sogenannte Mittellamelle, die Intercellularsubstanz, wird im Allgemeinen nicht von diesem Reagens aufgelöst; dasselbe ist der Fall mit der Cuticula.

Kabsch zufolge ist Kupferoxyd-Ammoniak ein Reagens auf Pektose; wird ein Zellgewebe, welches diesen Stoff enthält, mit dem genannten Reagens behandelt, so bleibt ein feines Skelett von pektinsaurem Kupfer zurück.[1])

Die unorganischen Säuren.

6) **Schwefelsäure** [Acidum sulfuricum purum].

Wird nach den Umständen in concentrirtem oder verdünntem Zustande angewandt; in letzterem Falle kann 1 Volumen Säure auf 3 Volumen Wasser als das Passendste angesehen werden.[2])

Die Schwefelsäure bringt in verdünntem Zustande die Stärkekörner zum Aufquellen und hat eine ähnliche Ein-

---

[1]) *Schweitzer*: Vierteljahrsschrift naturf. Ges. Zürich, II. Bd. 1857 (Entdecker).
Kabsch: Pringsheims Jahrb. III. 1863, p. 357.
Hofmeister: Pflanzenzelle. Handb. d. phys. Bot. I, p. 240.
Dippel: Mikroskop I, p. 280.
Wiesner: Technische Mikroskopie. 1867, p. 38. Anm. 2.
Naegeli: Mikroskop. 1877, p. 474.
Frémy: Mém. de l'acad. Paris, 1859.
" Journal de pharm. et chim. 36 tome.
Epstein: De conjunctione cellulosae cum cupro oxydato. Dissertatio, Breslau, 1860 (Cfr. Botan. Zeitg. 1860, p. 234).

[2]) *Dippel*: Das Mikroskop I, p. 276.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 474.
Weiss: Allg. Bot. 1878, I, p. 62 und andere St.
Hofmeister: Pflanzenzelle. Handb. d. physiol. Botan. I, p. 252 u. m. a. St.

wirkung auf die Cellulosemembranen, namentlich auf collenchymatische Gewebemassen; Cellulose wird dabei zu einem ihr isomeren Stoffe, Amyloid, verwandelt, der im Gegensatz zu der reinen Cellulose von Jodauflösungen blau gefärbt wird. Um zu prüfen, ob eine Membran reine Cellulose ist, behandelt man sie auch erst mit Jodalkohol und bringt sie darauf in Schwefelsäure; sie wird alsdann blau gefärbt.

Die concentrirte Schwefelsäure löst alle Zellmembranen und Amylumkörner, indem sie alle Theile, womit sie in Berührung kommt, zum Aufquellen bringt; Amylum setzt sich durch die Säureeinwirkung zu Dextrin um.

Die cuticularisirten Theile der Zellhäute widerstehen der Säure [Korkzellen, Cuticula,[1]) Exinen, Wurzelscheiden] gerade so wie die obengenannte Mittellamelle. Das Protoplasma wird gleichfalls nach längerer Einwirkung zerstört; junge Protoplasmakörper werden oft durch die Einwirkung der Säure allein rosenroth gefärbt;[2]) lässt man sie von einem Rohrzuckersyrup durchdrungen werden, so gelingt diese Farbenreaktion häufiger. Die im Plasma befindlichen Oelmassen werden nicht aufgelöst, aber fliessen zu kleinen, lichtbrechenden Tropfen zusammen.[3]) Dasselbe ist der Fall mit dem Oele, welches mit der Protoplasmamasse, ohne sich in Tropfenform zu zeigen, innig gemischt gewesen war.

7) **Salpetersäure** [Acidum nitricum].

Wird theils als Macerationsmittel, namentlich in Verbindung mit chlorsaurem Kali (vergl. dieses), benutzt.[4])

---

[1]) *De Bary*: Anatomie. *Hofmeister's* Handbuch III. 1878, p. 84, 131.
Brogniart: Ann. des sciences nat. I, sér. Tome XXI. 1830, p. 427.

[2]) *Sachs*: Keimungsgeschichte der Dattel. Bot Zeitg. 1862, p. 242.

[3]) *Sachs*: Keimung der Gräser. Bot. Zeitg. 1862, p. 146.

[4]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 275.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 474.
Sanio: Bot. Zeitg. 1863, p. 362, Anm.

Wenn ein Zellinhalt mit Salpetersäure allein oder erst damit und darauf mit Ammoniak behandelt wird, wird er, sofern er Proteïnstoffe enthält, schön gelb von Xanthoproteïnsäure gefärbt.

Als Reagens auf Suberin[1]) wird nach Höhnel entweder reine concentrirte Salpetersäure oder eine Mischung von dieser und chlorsaurem Kali angewandt. Um diese sogenannte Cerinsäurereaktion vorzunehmen, werden sehr feine Schnitte mit den genannten Stoffen gekocht; wenn dann Suberin in dem Gewebe ist, so werden nach Auflösung der übrigen Membrantheile von den zurückbleibenden, suberinhaltigen und nun gelben Theilen kugelförmige Massen gebildet, welche im Anfang körnig sind, später aber homogen werden. Sie bestehen aus Cerinsäure und sind in Alkohol, Aether, Benzol und Chloroform löslich.

Warme Salpetersäure färbt die „Mittellamelle“ [die Intercellularsubstanz] gelb bei nachfolgender Behandlung mit Ammoniak.[2])

Die Salpetersäure löst Amylumkörner unter Aufblähung und kann daher besonders in verdünntem Zustand mit Vortheil zur Klärung vieler, mit Stärke überfüllter Gewebe angewandt werden.

8) **Chromsäure** [Acidum chromicum].

Wird in verdünntem oder concentrirtem Zustande angewandt[3]); sie muss schwefelsäurefrei sein. Da die Flüssigkeit leicht Krystalle im Flaschenhalse ausscheidet, müssen

---

[1]) *Höhnel*: Kork und verkorkte Gewebe. Sitzungsber. d. Wiener Acad. 1877, I. Abth.

[2]) *Dippel*: Das Mikroskop, II, p. 100.

[3]) *Dippel*: Structur der Zellhülle. 1878.
Sanio: Bot. Zeitg. 1860—63.
Kabsch: Pringsh. Jahrb. III, p. 387.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 475.

die Pfropfen entweder mit Vaselin beschmiert oder häufig gelöst werden.

Die Chromsäure bringt die Zellmembranen zum Aufquellen und zur Auflösung in der Flüssigkeit. Die verdünnte Säure ist ein ausgezeichnetes Mittel, um die Schichtenvertheilung der genannten Stoffe nachzuweisen, da die Aufquellung langsam vor sich geht. Nur siliciumhaltige und verkorkte [1]) Membranschichten bleiben zurück; ligninhaltige Häute werden vollständig gelöst. Die suberinhaltigen werden in der Chromsäure sehr klar, so dass sie beinahe nicht zu sehen sind, aber beim Auswaschen der Säure werden sie wieder deutlich; erst nach langer Einwirkung des Reagens werden sie aufgelöst.

Die Chromsäure ist, im Ganzen genommen, ein vorzügliches Mittel bei histologischen Studien über Schichtung der Stärkekörner, der Membranen u. a. Auch als Plasmafixionsmittel sehr oft verwendbar, doch nur in sehr verdünntem Zustand.

9) **Ueberosmiumsäure** [Acidum superosmicum].

Diese sehr übelriechende Säure [2]), welche gewöhnlich in krystallisirtem Zustand aufbewahrt und, wenn sie angewandt werden soll, aufgelöst werden muss, und deren wässerige

---

[1]) *Höhnel*: Ueber Kork. Sitzungsber. der Wiener Acad. 1877, I. Abth. Höhnel ist hier im Widerstreit mit *Pollender*: Chromsäure als Lösungsmittel für Pollenin u. Cutin. Bot. Zeitg. 1862, p. 385.

[2]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 375.
Strasburger: Befruchtung u. Zelltheilung. 1878. Studien über Protoplasma. 1876.
Pfitzer: Die Bacillariaceen. *Hanstein's* bot. Abhandl. I, 2. Heft. 1871, p. 33.
Naegeli: Das Mikroskop; 1877; p. 476.
Ranvier: Histologie, 1875, p. 55.
Robin: Microscope, 1877, p. 220.

Auflösung in's Finstere gestellt werden muss, ist namentlich in der neueren Zeit besonders viel beim Studium des feineren Baues des Protoplasmas angewandt worden. Da die Dämpfe der Säure in hohem Grade die Schleimhäute der Nase und der Augen angreifen, hat man, um diesen Unannehmlichkeiten zu entgehen, das Osmiamid anempfohlen, das im Uebrigen ganz wie die Säure wirken soll. Oel und Fett reduciren die Osmiumsäure. Es wird metallisches Osmium ausgeschieden, und die Oeltropfen werden dabei braun oder selbst schwarz gefärbt.

Durch eine gleiche Reaktion kann man Gerbstoff nachweisen.

Zur momentanen Erhärtung des lebenden Protoplasmas eignen sich sehr verdünnte, 1procentige Auflösungen vortrefflich.

Die Stadien der Kerntheilung und andere Strukturverhältnisse im Protoplasmakörper werden auf diese Weise im Verlauf von wenigen Minuten fixirt und können nach Auswaschung Aufbewahrung in verdünntem Glycerin vertragen. Jedoch werden sie hierdurch sehr durchsichtig.

In der neuesten Zeit ist die Ueberosmiumsäure als Hilfsmittel bei der Präparation von jungem, meristematischen Gewebe empfohlen worden.[1]) Die zu behandelnden Organe wurden in die sehr verdünnte (1 % bis $^1/_{10}$ %), wässerige Lösung hineingebracht, bis sie geschwärzt waren; dann wurden sie mit Alkohol behandelt, mit Nelkenöl aufgehellt und in Kakaobutter (butyrum Cacao der Apotheken) eingebettet, um hierin geschnitten zu werden. Die aufzubewahrenden Schnitte wurden in Canadabalsam präparirt.

Eine Mischung von neun Theilen 0,25 procentiger Chromsäure und einem Theil 1 procentiger Ueberosmium-

[1]) *Parker*: On some Applications of Osmic Acid. — (Journal of the Royal microscopical society. Vol. II, 1879, p. 382.)
Die Methode habe ich nicht geprüft. *V. A. P.*

säure hat auch gute Resultate geliefert. Sowohl Färbung als Erhärtung werden durch diese Methode auf ein Mal erreicht; Endknospen von Chara dienten als Material.

10) **Phosphorsäure** [Acidum phosphoricum glaciale].

Ihre Anwendung als Wassereinlagerungsmittel ist nur gering. Sie bringt die Krystalloide zum Aufschwellen.[1]

11) **Salzsäure** [Acidum hydrochloratum].

Wie andere kräftige Säuren, hat auch diese[2] die Einwirkung auf Amylum und junge Zellhäute, dass sie, namentlich in concentrirtem Zustande, dieselben zum Aufquellen bringt. Man muss beim Gebrauch dieses Stoffes sowohl wie anderer Säuren grosse Deckgläser anwenden, um die Objektive zu schützen.

Als Hilfsmittel bei der Hanstein'schen Gewebeaufhellungsmethode haben wir sie bereits unter Kaliumhydroxyd (S. 11) besprochen, und wir werden hernach sehen, dass sie auch bei einer der Holzstoffreaktionen benutzt wird. Kabsch[3] hat sie in Verbindung mit der concentrirten Schwefelsäure und dem concentrirten Kali angewandt, um die tertiäre Verdickungsschicht der Holzzellen zu isoliren; die Schnitte werden mit jedem einzelnen Stoff für sich behandelt und ausgewaschen.

Bei langem Liegen in der Säure sollen stickstoffhaltige Substanzen (Proteïnstoffe) eine violette Farbe

---

[1] *Hofmeister*: Pflanzenzelle. Handbuch der physiol. Bot. I. Mehrere Stellen.
Kraus: Pringsh. Jahrb. VIII. Krystalloide in der Oberhaut.

[2] *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 276; II, p. 41.
Höhnel: Kork u. s. w. Sitzungsber. d. Wien. Acad. 1877, Abth. I, p. 21.

[3] Pringsh. Jahrb. III. 1863.

annehmen. Die Salzsäure ist ferner mit Vortheil zum Nachweis der Zellkerne bei den Diatomeen u. a. angewandt worden. [1])

Wird ein Krystall mit Salzsäure behandelt, so wird er, sofern er Kohlensäure enthält, stark aufbrausen, indem dieses Gas sich ausscheidet und sich Chloride bilden; hat der betreffende Krystall dagegen Oxalsäure enthalten, so wird er ohne Gasentwickelung aufgelöst.

In der neuesten Zeit hat Pringsheim [Monatsber. d. Berl. Akad. November 1879] Salzsäure als Mittel zur Nachweisung des von ihm entdeckten Hypochlorins, eines Bestandtheiles der Chlorophyllkörner [siehe Chlorophyll], angewandt. Die Schnitte werden frisch in die Säure gebracht und müssen einige Stunden darin liegen; das Hypochlorin tritt dann aus als kleine, bräunliche oder rostfarbige, halbflüssige Ausschwitzungen von nahezu sphärischer Form, die nach Verlauf einiger Zeit in mehr oder minder deutlichen, nadelförmigen Krystallen auskrystallisiren.

Organische Säuren.

12) **Essigsäure** [Acidum aceticum dilutum].

Man wendet diese Säure [2]) in dem Zustand, in dem sie im Handel geführt wird, als Hilfsmittel bei verschiedenen mikrochemischen Arbeiten an; so anstatt Salzsäure bei der Hanstein'schen Methode zur Klärung undurchsichtiger

---

[1]) *Pfitzer*: Bacillariaceen. *Hanstein's* Bot. Abhandl. I, 2. Heft, p. 31.
[2]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 277; II, p. 10.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 476.
Hanstein: Scheitelzellgruppe. 1868.
„ Entwickelung des Keimes. — Bot. Abh. I. Bd. 1. Heft, p. 5.
Strasburger: Studien über Protoplasma. 1876, p. 5.

Meristeme (siehe unter Kaliumhydroxyd, S. 11). Die Schnitte werden erst in destillirtem Wasser ausgespült und darauf in einen Tropfen Essigsäure auf das Objektglas gebracht; unter Neutralisation des Kalis werden sie oft etwas undurchsichtig, aber gewinnen, bisweilen sogar in erhöhtem Grade, ihre Klarheit beim Einlegen in Glycerin wieder.

Bei der Prüfung auf Oxalsäure (bei Krystalluntersuchungen) giebt die Essigsäure deren Vorhandensein an, wenn die Krystalle sich nicht hierin auflösen, dagegen aber in Salzsäure (siehe S. 21); kohlensaure Salze lösen sich unter starker Gasentwickelung; sie kommen entweder in krystallisirtem Zustand oder als inkrustirende Bestandtheile der Zellmembranen vor.

Essigsäure lässt die Zellkerne scharf und klar hervortreten und ist oft ein ausgezeichnetes Mittel beim Studium der feineren Protoplasmastruktur; Strasburger (Zellbild. u. Zellth. III. Aufl. 1880) empfiehlt eine 1 $^0/_0$ wässerige Lösung zur Fixirung der Kerne bei deren Färbung mit Methylgrün; zugleich wirkt sie oft klärend auf die Plasmakörper und bringt die Hautschicht auf diesen zum Aufquellen.

Als Zusatz zu Cochenilleauflösung und zu dem Glycerin, worin man karmingefärbte Zellkernpräparate aufzubewahren wünscht, hat die Essigsäure auch Anwendung gefunden.

13) **Oxalsäure** [Acidum oxalicum].

Wird in wässeriger Auflösung[1]) in Verbindung mit gewissen Farbstoffen zum Färben der Gewebe angewandt; in alkoholischer Auflösung ist sie ein gutes Mittel um die Farbe allzu stark gefärbter Präparate fortzunehmen.

---

[1]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 285.
Frey: Das Mikroskop, p. 77.
Bachmann: Dauerpräparate, p. 27.
Wiesner: Technische Mikroskopie, p. 247 und 258.

Ebenso wird eine concentrirte, wässerige Auflösung zum Nachweis von Pektose angewandt, nachdem die Schnitte mit Kali behandelt worden sind; die Pektose wird hierbei aufgelöst.

14) **Carbolsäure** [Acidum carbolicum. Phenol].

Als mikrochemisches Reagens spielt sie nur eine geringe Rolle.[1]) Membranen, die nach Behandlung mit Carbolsäure eine grüngelbe oder blaugrüne Farbe annehmen, wenn sie mit Salzsäure befeuchtet werden, werden als verholzt angesehen. Das Phenol tritt also hier als Reagens auf Lignin (?) auf.

Leitgeb[2]) hat eine Auflösung von Phenol in Alkohol als Klärungsmittel bei histogenetischen Untersuchungen bei den Moosen anempfohlen.

Das Phenol muss in geringer Menge dem Gelatinglycerin zugesetzt werden, um die Schimmelbildung zu verhindern, und ferner kann es in verdünntem Zustande als Aufbewahrungsmittel für Bacterien (Warming) angewandt werden; diese treten scharf hervor, aber der Inhalt bekommt ein homogenes, klares Aussehen.

15) **Alkohol** [Spiritus alcoholisatus. Aethylalkohol].

Die bekannte desinficirende Wirkung des Spiritus oder Alkohols[3]) beruht auf seiner tödtlichen Einwirkung auf alles

---

[1]) Botanische Zeitg. 1877, p. 786.

[2]) *Naegeli*: Das Mikroskop. 1877, p. 476.

[3]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 282.
De Bary: Vergl. Anat., p. 86.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 476.
Sachs: Botanische Zeitung. 1864, Nr. 12 und 13.
Weiss: Allg. Botanik. 1878, p. 182, 185.
Tangl: Protoplasma der Erbse. Sitzungsber. der Wiener Akademie. I. Abth. 1877—78.
Strasburger: Zellbildung u. Zelltheilung. 1875, p. 2.
" Befruchtung u. Zelltheilung. 1878, p. 38.

Protoplasma; daher seine Anwendung als Aufbewahrungsmittel für Thier- und Pflanzentheile. Absoluter Alkohol hat nämlich die Eigenschaft, welche er mit der Ueberosmiumsäure theilt, das Protoplasma zum Erstarren zu bringen; er kann daher mit Vortheil bei Studien über feinere Protoplasmastruktur, Zellkerntheilungen u. a. angewandt werden. Seine wasserentziehende Eigenschaft bewirkt, dass die Protoplasmakörper sich von den Wänden zurückziehen, wodurch ihre Hautschicht deutlich wird; gerade deshalb verdanken wir dem Alkohol die Anwendung zur Erhärtung grösserer Gewebemassen, welche sich in frischem Zustande nur schwierig mit dem Messer behandeln lassen. Er kann auch mit Vortheil angewandt werden, um die Luft der Zellenzwischenräume in einem Präparat auszutreiben, da er leichter als Wasser in die feinen Capillaren eindringt; ein Erwärmen des Präparats wird in den schwierigeren Fällen stets zum Ziele führen; der Alkohol muss dabei nach und nach, wie er verdampft, zugesetzt werden; hilft auch dieses Verfahren nicht, so muss man seine Zuflucht zur Luftpumpe nehmen.

Alkohol ist ein Auflösungsmittel für ätherische Oele und Harze. Dagegen sind fette Oele und Pflanzenwachs in kaltem Alkohol unlöslich; die Oeltropfen werden dazu gebracht in grössere Massen zusammenzufliessen.

In stark saccharosehaltigen Geweben, z. B. in Nektarien, kann der Zucker durch Einwirkung von absolutem Alkohol dazu gebracht werden in kleinen, sternförmigen Krystallen, die in Wasser löslich sind, auszukrystallisiren.[1])

In den Geweben aller inulinhaltigen Pflanzentheile bringt der Alkohol bei längerer Einwirkung eine Ausfällung des Inulins innerhalb der Zellen in Form sphaerokrystallinischer Massen hervor. So bei Inula, Helianthus, Dahlia; auch

---

) *Bonnier*: Les Nectaires. Ann. des sc. nat. 1879. Pl. 8, figg. 124, 126.

andere sphaerokrystallgebende Stoffe werden auf diese Art zum Krystallisiren gebracht, z. B. Hesperidin[1]) u. a. [Siehe Inulin u. Hesperidin.]

Das Asparagin kann gleichfalls mit absolutem Alkohol nachgewiesen werden. Man behandelt nämlich die betreffenden Schnitte wiederholt mit dieser Flüssigkeit, indem man sie in der Zwischenzeit eintrocknen lässt. Es scheiden sich dann die Asparaginkrystalle[2]), oft zugleich mit anderen krystallisirenden Stoffen aus; jene sind dann daran kenntlich, dass sie in warmer Asparaginlösung unauflöslich sind. Dasselbe Verfahren lässt sich möglicherweise mit Erfolg auf andere Stoffe anwenden; auf Tyrosin ist es bereits erprobt.

Ausserdem findet Alkohol Anwendung in vielerlei Art als Auflösungsmittel für einen Theil der in der Mikrochemie gebräuchlichen Reagentien, wie für Anilinfarben, Sublimat, Phloroglucin, Jod u. a.; ebenso als Entwässerungsmittel für Präparate, welche in flüchtige Oele oder Canadabalsam eingelegt werden sollen.

16) **Glycerin** [Glycerinum venale und Wilsoni].

Das Glycerin[3]), das namentlich als Einlegemedium für Dauerpräparate ausgedehnte Anwendung findet, wozu ich

---

[1]) *Prantl*: Das Inulin. 1870.
Rosenvinge: Sfaerokrystaller hos Mesembrianthemum. Nat. Foren. vidsk. Meddelelser 1877—78; p. 305, cum Tab. [Hierin die Litteratur.]
Pfeffer: Sachs Lehrb. 1874, p. 65.
Russow: Leitbündelcryptogamen. 1872, p. 110.

[2]) *Hartig*: Entwickelung des Pflanzenkeimes. 1858.
Pfeffer: Ann. des sc. nat. V. sér. Tome XIX, p. 391.
Sachs: Lehrbuch. 1874, p. 689.
Borodin: Bot. Zeitg. 1878, p. 803.
Detmer: Vergl. Physiol. d. Keimungsprocesses. 1880, p. 171.

[3]) *Kraus*: Bot. Zeitg. 1877, p. 329. — *Sachs*: Bot. Zeitg. 1864, Nr. 12 u. 13. — *Naegeli*: Das Mikroskop. 1877, p. 475. — *Hegelmaier*: Entwickelung dicotyledoner Keime, p. 11.

besonders das nahezu wasserfreie, sogenannte Gl. Wilsoni anempfehle, wird ausserdem in verdünntem Zustand auf vielerlei Art verwandt; man verdünnt nach den Umständen mit Wasser oder Alkohol oder mit beiden Theilen; zum vorläufigen Einlegen kann eine Mischung gleicher Volumina Glycerin, dest. Wasser und absol. Alkohol anempfohlen werden.

Als wasserentziehendes Mittel wird es bei Untersuchungen über Protoplasma wie Alkohol angewandt; als klärendes Mittel kann es in mannigfaltigen Fällen ausgezeichneten Nutzen verschaffen, z. B. bei Untersuchungen über die Histologie der Gefässstränge, als Einlege- oder letztes Klärungsmittel bei der Hanstein'schen und Russowschen Gewebeklärungsmethode; eine Mischung von verdünnter Kaliauflösung und Glycerin ist von Hegelmaier bei Keimstudien angewandt worden.

Als Reagens auf Zucker und Inulin hat Kraus das Glycerin anempfohlen. Werden nämlich Schnitte, von denen man vermuthet, dass sie die genannten Stoffe in gelöstem Zustand enthalten, in Glycerin gelegt, so entwickeln sich stark lichtbrechende, abgerundete Tropfen in den Zellen; diese Tropfen werden, wenn wir es mit Inulin zu thun haben, zu den bekannten charakteristischen Sphaerokrystallen und halten sich folglich, aber wenn nur Zucker in dem Gewebe ist, lösen sie sich plötzlich wieder auf. Die Schnitte dürfen nicht erst in Wasser gewesen sein, sondern müssen direkt in das Glycerin gebracht werden. Die Sicherheit dieser Reaktion bedarf gewiss noch näherer Prüfung.

Auch bei grösseren Gewebemassen kann Glycerin zum Ausscheiden des Inulins, sowie als Aufbewahrungsmedium für Inulinpräparate angewandt werden.

Zum Studium der Proteïnkörner ist das Jod-Glycerin anempfohlen worden. Es wird dargestellt durch Auflösen von wenig Jod in Glycerin, worin man vorher etwas

Jodkalium aufgelöst hat; genaue Angabe der Zahlenverhältnisse ist durchaus überflüssig.

Zu demselben Zwecke wird auch warmes Glycerin angewandt, in welchem der Inhalt der Proteïnkörner, die in natürlichem Zustande ein homogenes Lichtbrechungsvermögen besitzen, deutlich wird, so dass sich Globoide und Krystalloide wahrnehmen lassen.

Da die Verdunstung des Glycerins eine fast unmerkliche ist, so ist es eines der besten Aufbewahrungsmittel für Dauerpräparate; weil es aber in wasserfreiem Zustande die Feuchtigkeit der Luft einsaugt, so muss das Deckglas luftdicht zugekittet werden.

17) Aether, Benzol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, ätherische Oele.[1])

Als Mittel zu erfahren, in wieweit ein Stoff ein Fettstoff, ein flüchtiges Oel, ein Harz oder dergl. ist, hat man in der Mikrochemie einige in chemischer Hinsicht zum Theil grundverschiedene Stoffe eingeführt, welche durch ihre auflösenden Eigenschaften uns die eben genannten, in Geweben häufig vorkommenden Körper erkennen lassen. Man bedient sich hierzu des Aethers, des Chloroforms, des Alkohols, des Benzols, des Terpentinöls und des Schwefelkohlenstoffs.

---

[1]) *Weiss*: Allgemeine Bot. 1878, p. 178.
De Bary: Vergl. Anatomie, p. 86.
H. de Vries: Keimung des rothen Klees. Landwirthschaftliche Jahrb. 1877, VI. Bd., p. 468.
Naegeli: Das Mikroskop, 1877, p. 476.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 374.
Wiesner: Technische Mikroskopie, p. 81.
Ueber Schwefelkohlenstoff als Reagens auf Schwefel siehe diesen Stoff im 2. Abschnitt.

Die Harzarten sind löslich in
Aether, kaltem, absoluten Alkohol, Schwefelkohlenstoff und Terpentinöl.

Die fetten Oele werden gelöst von
Schwefelkohlenstoff, ätherischen Oelen, kochendem Alkohol, Aether; bei Behandlung mit concentrirtem Kaliumhydroxyd verseifen sie, und die dabei gebildeten, fettsauren Salze sind in Wasser löslich.

Aetherische Oele werden leicht gelöst von
Terpentinöl und kaltem, absoluten Alkohol; die meisten auch von Aether und Schwefelkohlenstoff.[1])

Schon mit Hilfe des Verhaltens zum Alkohol wird man also zwischen fetten und flüchtigen Oelen unterscheiden können. Hinsichtlich der Harze müssen andere Reaktionen angewandt werden, worüber später.

Auch als Reagens auf Wachs können die Stoffe, welche fette Oele auflösen, angewandt werden.

Hinsichtlich der Anwendung der genannten Reagentien können wir nur bemerken, dass, da Schwefelkohlenstoff, Aether und Terpentinöl, sowie Benzol in Wasser unlöslich sind, die Schnitte am besten unmittelbar in diese gebracht werden müssen; man darf nicht wie bei so vielen anderen Reagentien in Wasser präpariren und dann das Reagens unter das Deckglas zum Schnitt dringen lassen. Die zweckmässigste Verfahrungsart ist, die Schnitte in einem Uhrglase mit grösseren Mengen des Reagens zu behandeln.

Aetherische Oele.

Verschiedene ätherische Oele finden ausser dem schon genannten Terpentinöl Anwendung in der Mikroskopie.

---

[1]) *Dippel:* (Mikr., I, p. 374) giebt an, dass sie eben in Aether unlöslich seien, was ich nicht begreife. V. A. P.

Das Nelkenöl und das Citronenöl sind nämlich besonders anwendbar als klärende Mittel bei Pollenuntersuchungen. Sie eignen sich ausserdem als Einlegemedium für solche Gegenstände, die nicht in Wasser untersucht werden dürfen, sondern einen Stoff von anderem Brechungscoëfficienten erfordern; und da sie die Lichtbrechung vermindern, sind sie von gutem Nutzen bei der Untersuchung vieler stark lichtbrechender Stoffe im polarisirten Licht. Die Präparate, die in Oel gewesen sind, müssen mit Aether oder Chloroform und darauf mit Alkohol ausgespült werden, ehe sie in Wasser oder Glycerin gelegt werden.

Unorganische Salze.

18) **Chlornatrium** [Kochsalz].

Eine schwache, wässerige Auflösung[1]) hiervon wird als morphologisches Reagens zum Zusammenziehen des Protoplasmakörpers angewandt, ein Phänomen, welches seiner wasserentziehenden Eigenschaft zuzuschreiben ist. Viele andere Salzauflösungen haben dieselbe Wirkung. Eine verdünnte Chlornatriumauflösung vermag (wenigstens bei Bertholletiakeimen) Krystalloide aufzulösen [Weyl: Zeitschr. für phys. Chemie, I. Bd., p. 90].

19) **Chlorcalcium** [Chloretum calcicum].

In wässeriger Auflösung (2 bis 3 Theile Wasser auf 1 Theil des Salzes) wird dieser Stoff als Aufbewahrungsmittel für Dauerpräparate, nur nicht für Amylum, angewandt; doch hat das Glycerin es in den meisten Fällen ersetzt. In der neuesten Zeit hat es Anwendung als Gewebeklärungsmittel gefunden. Die zu behandelnden Schnitte werden in ein Paar Tropfen Wasser gelegt und mit trockenem, pulverisirten Chlorcalcium bedeckt; man erhitzt über einer

[1]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 279.

schwachen Flamme, bis die Masse nahezu trocken ist, und fügt wieder ein Paar Tropfen Wasser hinzu; die Schnitte werden herausgenommen und in Glycerin gelegt, wo sie nach Verlauf von wenigen Stunden eine zufriedenstellende Durchsichtigkeit erlangt haben.[1])

20) **Quecksilberchlorid** [Chloretum hydrargyricum. Sublimat].

Eine sehr verdünnte, wässerige Auflösung hiervon [1 : 100] wird angewandt, um die feinsten Protoplasmaströme deutlicher zu machen.[2])

In alkoholischer, zweiprocentiger Auflösung ist es in die Mikrochemie durch Pfeffer[3]) zum Studium der Proteïnkörner eingeführt worden; es geht nämlich mit den Proteïnstoffen eine in Wasser unlösliche Verbindung ein. Die Präparate müssen wenigstens 12 Stunden in der Flüssigkeit liegen.

21) **Eisenchlorid** [Chloretum ferricum].

Eine wässerige Auflösung kann als Reagens auf Gerbstoff,[4]) wenn dieser nicht in allzu geringer Menge

---

1) Treub'sche Methode. *Treub*: Méristème primitif de la racine. — Musée de Leyde. Tome II. 1876, p. 9.
Eriksson: Meristemet i dicotyla växters rötter. P. 10.
Flahault: Accroissement terminale de la racine. Ann. des sc. nat. 1878, p. 24.

2) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 281.

3) Pringsh. Jahrb. VIII. 1872, p. 491.
Weiss: Allg. Bot., p. 140, Anm.
Sachs: Lehrb. 1874, p. 55.
Duchartre: Eléments de Bot. 1877, p. 102.

4) *Karsten*: Gesammelte Beitr. zur Anat. u. Phys. d. Pflanzen, I. 1865, p. 253.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 375.
Wiesner: Technische Mikroskopie, p. 83. — *Weiss*: Allg. Botanik, I, p. 181. — Die Pflanzenhaare. Karstens Bot. Untersuch., I.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 475.

vorhanden ist, benutzt werden. Die betreffenden Zellen, welche unmittelbar in das Reagens übergeführt werden müssen und nicht vorher mit Wasser, das den Gerbstoff leicht auflöst, behandelt werden dürfen, nehmen dann eine dunkelgrüne oder schwarzblaue Farbe, je nach der Natur des Gerbstoffes, an. Die grünen werden von Kali gelb gefärbt.

Im Uebrigen darf die Auflösung dieser Eisenverbindung nicht zu concentrirt sein, da man dadurch leicht dazu kommt, den Zellen einen Ueberschuss davon zuzuführen, in welchem Falle das ausgefällte gerbsaure Eisen aufgelöst wird, und die Reaktion dadurch an Stärke verliert. Man hat daher in der neueren Zeit das Eisenchlorid mit dem essig- oder schwefelsauren [1]) Eisen vertauscht, welches weit sicherere Reagentien sind und daher unbedingt vorgezogen werden müssen.

22) **Chlorsaures Kalium** [Chloras kalicus].

Eine wässerige, concentrirte Auflösung oder besser die Krystalle des Kaliumchlorats selbst werden mit Salpetersäure zusammen zur Auflösung der Mittellamelle (Maceration) und dadurch zur Isolirung der Zellen angewandt, was namentlich bei Holzuntersuchungen Bedeutung hat [2]). Die Mischung, das sogenannte Schultze'sche Macerationsmittel, wird mit Stücken des betreffenden Gewebes einige Minuten

---

[1]) Vergl. *Link*: Grundlehren d. Anat., 1807; p. 80; [hier meines Wissens zum ersten Male als mikrochem. Reagens].

[2]) *Sanio*: Botan. Zeitg. 1863, p. 362, Anm.
„ Anatomie der Kiefer, Pringsh. Jahrb. IX.
Höhnel: Ueber Kork. Berichte der Wiener Akad. 1877, I. Abth.
Schacht: Das Mikroskop, 1855, p. 27. — Anatom. u. Physiol. der Gew. I, p. 14.
Dippel: Das Mikroskop, II, p. 101.
Naegeli: Das Mikroskop, 1877, p. 474.

gekocht; nach sorgfältigem Auswaschen in Alkohol können die so macerirten Gewebe Aufbewahrung in Glycerin vertragen. Der Process muss in einem Abzuge vorgenommen werden, da die Mikroskope sonst leicht von den entwickelten Gasarten angegriffen werden.

Als Reagens auf Korkstoff hat das Schultze'sche Macerationsmittel auch Anwendung gefunden. Feine Schnitte werden lange und stark damit gekocht; alle Membrantheile werden bald klar, nur die suberinhaltigen bekommen dunkle und scharfe Conturen und widerstehen der Einwirkung länger; zuletzt krümmen sie sich, schwellen plötzlich auf und schmelzen zu kugelförmigen, in Aether, Benzol, Chloroform, Kalilauge und kochendem Alkohol auflöslichen Tropfen, die aus Cerinsäure bestehen, zusammen. Während des Processes ist ein Theil des Suberins von dem Reagens aufgelöst worden; nur ein Theil ist in Cerinsäure verwandelt. Sehr schwach verkorkte Membranen werden daher schwerlich diese Reaktion aufweisen; um indessen auch hier das Suberin nachweisen zu können, werden die Schnitte mit dem Schultzeschen Macerationsmittel in kaltem Zustand wenige Minuten behandelt, worauf sie in Kalilösung übergeführt werden. Die durch die erste Behandlung scharf hervortretenden Membranen nehmen dann, wenn das letzte Reagens zugesetzt wird, eine ockergelbe Farbe an, auf alle Fälle nach schwachem Erhitzen.

23) **Schwefelsaures Kupfer** [Sulphas cupricus].

Dieser Stoff hat eine sehr ausgedehnte Anwendung[1]) in der Mikrochemie; er wird stets in wässeriger, ziemlich con-

---

[1]) *Naegeli*: Das Mikroskop. 1877, p. 475 und 525.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 372; II, p. 20.
Weiss: Allg. Botanik. 1878, I, p. 171 und 174 nebst p. 77.
Sachs: Flora. 1862, p. 289.
„ Pringsh. Jahrb. III, p. 187.

centrirter Auflösung angewandt und muss chemisch rein sein.

Als Reagens auf Zucker wird dieses Salz auf folgende Art angewandt [die Trommer'sche Zuckerprobe].

Ein nicht allzu dünner Schnitt des zu untersuchenden Gewebes wird 2 bis 10 Minuten in eine concentrirte Kupfersulfatauflösung gelegt; die Oberfläche wird schnell in destillirtem Wasser abgespült, worauf der Schnitt in eine kochende Auflösung von gleichen Gewichtstheilen Wasser und Kaliumhydroxyd gebracht wird. Die Zellen, welche Rohrzucker (Saccharose) enthalten, werden dann hell blau gefärbt, wohingegen die traubenzucker-(glycose-)haltigen durch einen rothgelben, feinkörnigen oder flockigen Bodensatz von reducirtem Kupferoxydul unklar und trübe werden. Durch diese Probe haben wir auch zugleich erfahren, welche Zuckerart in dem Gewebe war. Kocht man die blaue Rohrzuckerauflösung mit verdünnter Schwefel- oder Salpetersäure, so wird sie in Traubenzucker übergeführt, und die rothe Reaktion tritt dann ein.

Wenn das schwefelsaure Kupfer bei der Behandlung zu stark in die Zellen eingedrungen ist, wird die darauf folgende Reaktion oft undeutlich gemacht von ausgeschiedenem Kupferoxydhydrat. Um dieser Unannehmlichkeit zu entgehen, kann man Fehlings Flüssigkeit anwenden, die im Uebrigen dieselbe Reaktion giebt. Sie wird auf folgende Weise zubereitet. 4 Grm. schwefelsaures Kupfer werden in 16 Grm. destillirtem Wasser aufgelöst. 16 Grm. weinsaures Kali

---

H. de Vries: Keimung des rothen Klees. Landwirthsch. Jahrb. VI. 1877, p. 468.

Wiesner: Technische Mikroskopie, p. 79.

Fresenius: Quantitative chemische Analyse. Braunschweig, 1853, p. 496.

Fehling: Ann. der Chemie u. Pharm. 72. Bd., p. 106.

wird in möglichst wenig Wasser aufgelöst. Die letzte Auflösung wird nun mit der ersten gemischt. Die Flüssigkeit muss im Finstern aufbewahrt werden und häufig durch eine frisch zubereitete ersetzt werden.

Das Trommer'sche Reagens kann auch Dextrin nachweisen. Die Ausscheidung in den Zellen ist dann zinnoberroth; kleine Körner zeigen die Brown'sche Molecularbewegung. Ist das Dextrin mit Proteïnverbindungen gemischt, so wird der Bodensatz gelblich.

Arabin (arabinsaurer Kalk), Cerasin (metagummisaurer Kalk) und Bassorin reduciren das Trommer'sche Reagens nicht; es bildet sich nur ein starker blauer Bodensatz, dessen Flocken sich beim Kochen zusammenballen.

Die Proteïnverbindungen werden auf demselben Wege nachgewiesen. Der Zellinhalt wird schön violett gefärbt, doch nur in jüngeren Zellen. In älteren tritt die Reaktion gar nicht auf.

Zellmembranen, welche nicht verholzt sind, werden nach langem Liegen in einer wässerigen Kupfersulfatauflösung schwach blau.

24) **Schwefelsaures Aluminium-Kalium** [Alaun].

Eine wässerige Auflösung[1]) wird theils als Bindemittel bei verschiedenen Färbungsprocessen wie in der Fabriktechnik angewandt, z. B. bei der Frey'schen Haematoxylinauflösung und dem Grenacher'schen Alaun-Karmin, theils als wasserentziehendes Reagens und endlich als Hilfsmittel bei der Hanstein'schen Gewebeklärungsmethode (siehe diese).

---

[1]) *Frey*: Das Mikroskop, p. 93.
Bachmann: Dauerpräparate, p. 28.
Hanstein: Scheitelzellgruppe. 1868.
(Der im Handel gehende Alaun ist zwar gewöhnlich Ammoniak-Alaun, lässt sich aber eben so gut anwenden).

25) **Salpetersaures Kalium** [Kalisalpeter].

Wird in verdünntem Zustande in $^1/_4\,^0/_0$, wässeriger Auflösung als Kulturflüssigkeit für lebende Zellgewebe höherer Pflanzen zur Beobachtung der Zellkerntheilung benutzt.[1])

26) **Salpetersaures Quecksilber** [Nitras hydrargyroso-hydrargyricum. Millon'sches Salz].

Diese Verbindung, das Millon'sche Reagens[2]), wird dargestellt durch Auflösen von Quecksilber in seinem Gewicht concentrirter Salpetersäure und Verdünnen mit dem gleichen Volumen destillirten Wassers. Sie muss meist in möglichst frischem Zustand angewandt werden.

Sie bringt Zellmembranen zum Aufschwellen und macht die Streifungen deutlicher. Aber die wichtigste Anwendung ist doch zum Nachweis von Proteïnverbindungen; diese werden nämlich, nachdem sie einige Zeit darin gelegen haben, oder auch nach schwachem Erwärmen damit rosenroth gefärbt.

Die Hautschicht des Protoplasmas wird nicht oder nur äusserst schwach gefärbt.

Es muss jedoch hinzugefügt werden, dass die Reaktionen nicht immer eintreten; das Reagens ist zu wenig empfindlich [Naegeli].

---

[1]) *Treub*: Quelques recherches sur le rôle du noyau dans la division des cellules végétales. 1878, p. 9. Naturk. Verh. d. koningl. Akad. Vol. XIX. Amsterdam.

[2]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 281; II, p. 18.
Naegeli: Das Mikroskop, 1877, p. 475 und 527.
Weiss: Allgem. Bot., 1, p. 77 und 144.
Millon: Ann. de chim. et de phys. 3. sér., tome 29, p. 507.
Radlkofer: Ueber krystal. proteïnart. Körper. Leipzig, 1859.

27) **Goldchlorid** [Chloretum auricum].

Eine sehr verdünnte Lösung ($^1/_2$ %) dieses Salzes ist neuerdings von amerikanischer Seite als Tinctionsmittel für Pilzgewebe empfohlen worden. Dauer der Einwirkung 1 bis 6 Stunden. Die Präparate können nachher in verdünntem Glycerin aufgehoben werden.[1]

28) **Nitroprussidnatrium.**

Kann in wässeriger Auflösung[2] zum Nachweis von freiem Schwefel angewandt werden. Man bereitet die Auflösung erst, wenn man sie benutzen soll; die Krystalle müssen luftdicht bewahrt werden, da sie sehr schnell Wasser aus der Luft anziehen und zerfliessen. Das Präparat wird mit Kaliumhydroxyd gekocht, wodurch die Schwefelkörner zu grösseren, gelben Massen, welche von Nitroprussidnatrium violett gefärbt werden, zusammenfliessen.

29) **Ferrocyankalium** [Gelbes Blutlaugensalz; gelbes Cyaneisenkalium].

Eine wässerige Auflösung hiervon fällt, wie bekannt, Eisenoxydsalze mit blauer Farbe. Man hat diese Reaktion benutzt, um das Eisenoxydhydrat in den Membranen nachzuweisen [z. B. Crenothrix].[3] Zellen, bei welchen die braune Farbe der Wände bereits die inkrustirende Eisenverbindung verräth, werden mit einer Mischung von Salzsäure und

---

[1] *W. Hassloch*: New-York, Med. Journ. Nov. 1878. Ferner: Journal of the Royal microscop. Society. Vol. II, 1879, S. 170.
Ich kenne es nicht aus Erfahrung. (V. A. P.)

[2] *Cohn*: Untersuchungen über Bacterien, II. — Beitr. zur Biol. d. Pfl. I. Bd., Heft 3, p. 175.

[3] *Cohn*: Ueber den Brunnenfaden. — Beitr. zur Biol. d. Pfl. II. Bd., Heft 1 p. 119.

Ferrocyankaliumauflösung behandelt. Die prächtige Farbe des Berliner Blau, welche dann auftritt, bestätigt sofort die Vermuthung, welche die braune Farbe hervorrufen musste.

30) **Rhodankalium.**

Eine alkoholische Auflösung wird, bisweilen in Verbindung mit Salzsäure, zur Nachweisung von Eisen in den Membranen benutzt. [Siehe den zweiten Abschnitt, Eisen.]

31) **Doppeltchromsaures Kalium** [Bichromas kalicus.]

Eine wässerige Auflösung von Kaliumbichromat[1]) wird zur Nachweisung von Gerbsäure angewandt. Grössere Gewebemassen werden längere Zeit in die Auflösung gelegt; die betreffenden Zellen werden dann rothbraun gefärbt. Doch sind die Eisenreaktionen vorzuziehen.

Wird auch zur Erhärtung angewandt; Harzmassen, damit behandelt, werden darin fest.

Organische Salze.

32) **Essigsaures Eisen** [Acetas ferricus].

Wird in wässeriger Auflösung ganz wie das Eisenchlorid angewandt. [Siehe das letztere].

---

[1]) *Dippel*: Das Mikroskop, I, p. 280.
Sanio: Bot. Zeitg. 1863, p. 17.
Hanstein: Organe der Harz- und Schleimabsonderung. Bot. Zeitg. 1863, p. 17.
Naegeli: Das Mikroskop. 1877, p. 475.
Weiss: Allgem. Bot., I, p. 187. Anm.

33) **Essigsaures Kalium** [Acetas kalicus].

Als Reagens hat das essigsaure Kalium keine Anwendung; dagegen soll es sich vortrefflich als Aufbewahrungsmittel für Dauerpräparate eignen.[1]) Die Behandlung der Schnitte ist ganz wie bei der Benutzung von Glycerin; die Auflösung muss nahezu concentrirt sein; nach dem Auflegen des Deckglases muss das Präparat ca. 24 Stunden liegen, ehe es eingekittet wird. Die Flüssigkeit krystallisirt nicht.

34) **Essigsaures Kupfer** [Acetas cupricus. Grünspan].

Es wird als Mittel zum Nachweis von Harzen anempfohlen. Grössere Gewebepartien werden 5 bis 6 Tage in eine wässerige Auflösung dieses Salzes gelegt, wodurch die Harzmassen eine smaragdgrüne Farbe annehmen.[2]) [Unverdorben's Harzreaktion.]

35) **Schwefelsaures Anilin** [Sulphas anilinicus].

Eine wässerige Auflösung dieses Stoffes, das sogenannte Wiesner'sche Anilinreagens, wird zum Nachweis von Lignin oder Holzstoff[3]) benutzt. Die Schnitte werden erst in verdünnte Anilinsulfatauflösung gelegt, bis sie hiervon gut durchtränkt sind; die holzigen Membranen nehmen oft schon hiermit eine schwach gelbe Farbe an, welche indessen bedeutend verstärkt wird, wenn sie darauf in

---

[1]) *Sanio*: Bot. Zeitg. 1863, p. 359.
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 480.

[2]) *Franchimont*: Origine et constitution chimique des résines de terpènes. — Cfr. Archives Néerlandaises. T. VI. 1871, p. 427, cum tab. VIII.

[3]) *Wiesner*: Technische Mikroskopie. 1867, p. 64. — *Karsten*: Bot. Untersuchungen, I, p. 120, Anm.
Burgerstein: Sitzungsber. der Wiener Akad. 1874; 70. Bd., I., p. 338.
Höhnel: Ueber Kork u. s. w. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1877, 76. Bd., I, p. 21.

verdünnte Schwefelsäure gebracht werden. Die Mischung derselben und des Anilinsulfates kann auch vorher vorgenommen werden.

Da dieses Anilinsalz nur in sehr unreinem und daher schwer löslichen Zustand im Handel vorkommt, empfiehlt sich besser:

36) Chloranilin.

Eine wässerige Auflösung hiervon wird ganz in derselben Art und zu demselben Zwecke wie die vorhergehende angewandt.[1]) Die assistirende Säure muss jedoch Salzsäure sein. Von beiden Anilinsalzen kann man eine alkoholische Auflösung anwenden; die Farbe tritt in den betreffenden Membranen dann mit grösserer Stärke hervor.

Andere organische Verbindungen.

37) Rohrzuckerauflösung

[Syrupus sacchari. Zuckersyrup].

Stark zuckerhaltige Pflanzenzellen werden oft schön roth gefärbt durch Zusetzen von concentrirter Schwefelsäure; dies hat man benutzt zu einer Reaktion auf protoplasmatische (Proteïn-) Substanzen.[2])

---

[1]) *Höhnel*: Ueber Kork, p. 21.

[2]) *Raspail*: Chimie organique, II, 1839; p. 139.
M. Schultze: Anm. der Chem. u. Pharm. Bd. 71, p. 270. (Entdeckt die Reaktion zum zweiten Male.)
Schacht: Mikroskop, p. 27.
" Pflanzenzelle, 27—28.
" Anat. u. Physiol. der Gewächse. I, p. 46 u. 61.
Dippel: Mikroskop, I, p. 283.
Naegeli: Mikroskop, 1877, p. 476, 526.
Frey: Mikroskop, p. 73.
Hofmeister: Pflanzenzelle. Handb. der phys. Bot. I, p. 2.
Weiss: Allg. Bot. I, p. 77.
Duchartre: Eléments de Bot. 2, Ausgabe, p. 25.

Die betreffenden Gewebe werden erst mit einer starken Auflösung von Rohrzucker in Wasser durchtränkt. Bei darauf folgender Schwefelsäurebehandlung tritt dann die rothe Farbe auf. Diese sogenannte Raspail'sche Reaktion ist indessen oft sehr schwierig hervorzurufen und gehört nicht zu den besten; die Schnitte müssen einige Zeit in der Säure liegen, ehe die Farbe hervorkommt.

Ausserdem finden wässerige Rohrzuckerauflösungen von verschiedener Concentration[1]) Anwendung als wasserentziehende Reagentien; eine 3 % Auflösung ist als Präparationsflüssigkeit beim Studium von durchsichtigen Eichen (Keimsackstudien, z. B. bei Monotropa und Orchis), eine 5 % zu Pollenkulturen unter dem Mikroskope anempfohlen worden.

38) **Asparagin** [Amidobernsteinsäureamid].

in lauwarmer, concentrirter, wässeriger Auflösung ist von Borodin als Reagens auf Asparagin (das mit Alkohol aus dem Gewebe ausgeschieden wird, siehe p. 20) anempfohlen worden; ein krystallisirter Stoff, in casu das Asparagin, wird nämlich nicht in einer gesättigten Auflösung desselben Stoffes aufgelöst.[2]) Das Asparagin wird dargestellt durch Eindampfen des ausgekochten und filtrirten Saftes junger, in der Dunkelheit aussprossender Leguminosen- (namentlich Lupinen-) Keimpflanzen oder durch Eindampfen von dialysirtem, wässerigen Decoct der Althaea-Wurzel; der Stoff krystallisirt alsdann aus.

39) **Phloroglucin.**

Eine der schönsten und besten Reaktionen der Mikrochemie ist von Wiesner in der neuesten Zeit entdeckt

---

[1]) *Strasburger*: Befruchtung u. Zelltheilung; p. 16, 29, 52 u. a.

[2]) *Borodin*: Bot. Zeitg. 1878, p. 804. f.

Detmer: Physiol. d. Keimung d. Samen. 1880, p. 171 ff.

worden, nämlich die Phloroglucinreaktion auf Lignin. Man wendet hierzu eine wässerige oder besser eine alkoholische Auflösung des genannten Stoffes an, der bereits in ausserordentlich kleinen Mengen die Reaktion hervorbringen kann[1]).

Der zu untersuchende Schnitt wird zuerst mit Salzsäure behandelt und darauf in einen Tropfen Phloroglucin auf das Objektglas gelegt; die ligninhaltigen Theile nehmen (nach der Concentration der Auflösung schneller oder langsamer) eine prachtvolle und intensiv rosenrothe Farbe an. Die Präparate können sich längere Zeit halten. Wenn man Schwierigkeit hat, sich das reine Phloroglucin anzuschaffen, das zur Zeit ziemlich kostbar und schwierig darzustellen ist, so kann man einen mit Wasser verdünnten Kirschholz-Extract, welcher u. a. denselben Stoff enthält, aber eine mehr violette Reaktion giebt, nehmen. (Diese letzte ist von ihrem Entdecker Höhnel die Xylofilinreaktion genannt worden.)

Färbemittel.

Zur Unterscheidung der verschiedenen Gewebesysteme sowohl wie zur Erkennung mehrerer verschiedener in den Zellen enthaltener Stoffe hat man in der neueren Zeit den Gebrauch eines Theils der Farbstoffe eingeführt. Wir werden hier nur die wichtigsten nennen.

40) Alcannatinctur.

Ein rother Farbstoff, welcher durch spirituöse Ausziehung der Wurzel von Alcanna tinctoria dargestellt wird. Er wird besonders zum Färben der Harze, welche namentlich diesen Farbstoff aufnehmen, angewandt; auch das Proto-

---

[1]) *Wiesner*: Sitzungsber. der Wiener Akad. 77. Bd., I. Abth. Januarheft. *Höhnel*: Sitzungsanzeiger d. Wiener Akad. 1877, Nr. 23, p. 228—29.

plasma wird davon schwach roth gefärbt.[1]) Präparate, welche mit Alcanna gefärbt sind, vertragen das Eintrocknen nicht.

41) **Cochenille.**

Ein wässeriger Cochenilleauszug[2]) wird unter Zusatz von Essigsäure oder Alaun zur Färbung der mechanischen, prosenchymatischen Zellen in dem Phloëmtheil der Gefässstränge („Bastzellen") angewandt; diese nehmen nämlich, wenn sie einige Zeit in dem Färbemittel gelegen haben, eine stark rothe Farbe an, während die übrigen Elemente entweder gar nicht beeinflusst oder nur in geringem Grade gefärbt werden. Doch giebt es gewisse Holzsorten, deren Gewebemasse auch den Cochenillenextract aufnimmt; aber durch nachfolgende Behandlung mit Salz- oder Schwefelsäure verschwindet die Farbe in allen Membranen, ausgenommen in den besprochenen Bastzellen, in welchen sie noch kräftiger wird.

Als Färbemittel bei Untersuchungen über Proteïnkörper hat der genannte Stoff auch Anwendung gefunden.

42) **Karmin.**

Eine Auflösung von Karmin in verdünntem Kali, so wie sie in fertigem Zustand im Handel gekauft werden kann, wird zum Färben von Zellkernen angewandt.[3]) Die

---

1) *N. J. C. Müller*: Untersuchungen über die Vertheilung der Harze. — *Pringsheim's* Jahrb. V. p. 387.
Hanstein: Organe der Harz- und Schleimabsonderung. — Botan. Zeitg., 1869, p. 707 u. 708.

2) *Wigand*: Botan. Zeitg., 1862; p. 129 u. 139.
Maschke: Bot. Zeitg., 1859, p. 22.
Vogl: Anat. u. Histol. der unterirdischen Theile von Convolvulus arvensis. Sitzungsber. d. Wiener Akad. XIII, 1863.

3) *Hartig*: Der Füllkern u. s. w. *Karsten's* Botan. Untersuchungen, I, p. 282. Anm.

Auflösung, in welcher nur ein geringer Rest unaufgelösten Karmins sein darf, wird filtrirt und darauf mit Wasser, Alkohol oder Glycerin in verschiedenen Verhältnissen versetzt. Das Objekt muss einige Zeit in der Auflösung liegen; nur die Zellkerne (und Proteïnkörner) nehmen die Farben auf.

Häufigere Anwendung hat jedoch das karminsaure Ammoniak gefunden.[1]) Man stellt es auf folgende von Hartig vorgeschlagene Weise dar. Man löst bis zur Sättigung das gewöhnliche, pulverförmige Karminroth in starker Ammoniakauflösung und dampft auf dem Wasserbade bis zur Trockene ein. Das dadurch gebildete karminsaure Ammoniak kann nun in Wasser aufgelöst werden und ist dann zum Gebrauch fertig.

Eine andere Darstellungsweise ist von Thiersch für die Zubereitung dieses Färbemittels vorgeschlagen: 1 Gewichtstheil Karmin wird in 1 Theil concentrirten Ammoniakwassers und 3 Theilen destillirten Wassers aufgelöst. Diese Auflösung wird mit ihrem achtfachen Volumen Oxalsäureauflösung, aus 1 Theil Oxalsäure und 22 Theilen Wasser zubereitet, versetzt, worauf 12 Volumina absoluter Alkohol hinzugesetzt werden, und dann wird filtrirt. Das Filtrat kann durch Zusatz von Oxalsäure orange, mit Ammoniak mehr violett gefärbt werden. Wenn beim Zusatz von Ammoniak oxalsaures Ammoniak ausgefällt wird, so kann man es entweder abfiltriren oder es mit einem Paar Tropfen Ammoniakwasser auflösen.

---

[1]) *Dippel*: Das Mikroskop, I. p. 184.
Frey: Mikroskop, 1873, p. 87—88 und 90.
Bachmann: Dauerpräparate, p. 26.
Tangl: Protoplasma der Erbse, — Sitzungsber. der Wiener Akad. 26—28. Bd.

Das Grenacher'sche Alaunkarmin, neuerdings in die Pflanzenhistologie von Tangl[1]) eingeführt, wird nach dem letztgenannten Forscher in folgender Weise zubereitet: Man löst Alaun in Wasser bis zur Sättigung; hierin löst man nun eine beliebige Menge Karmin, kocht c. 10 Minuten und filtrirt nach dem Erkalten. Durch diesen Farbstoff werden Cellulosemembranen intensiv roth, dagegen werden suberin- und ligninhaltige Membranen gar nicht gefärbt. Protoplasmakörper und Zellkerne färben sich auch sehr leicht und stark, und es ist zu empfehlen, die zu schneidenden Pflanzentheile vorher in absol. Alkohol zu härten, wodurch die Fähigkeit der Membranen, den Farbstoff aufzunehmen, gesteigert wird.

Wenn die Präparate durch das Liegen in diesen Karminflüssigkeiten zu stark gefärbt werden sollten, so können sie in alkoholischer Oxalsäureauflösung ausgelaugt werden.

Karmin färbt alles Protoplasma bei gehörig langem Liegen; besonders werden die Zellkerne intensiv gefärbt. Ist das Protoplasma lebend, so wird der Farbstoff nicht aufgenommen, ehe nicht der Tod durch die Anwendung des Tinctionsmittels herbeigeführt ist. Im Ganzen genommen, kann man sagen, dass die meisten Albuminarten durch organische Pflanzenstoffe gefärbt werden, während dagegen Stärke und Cellulose entweder gar nicht oder nur in weit geringerem Grade die Farbstoffe aufnehmen.

Das sogenannte Beale'sche Karmin, welches besonders zum Zellkernfärben angewandt wird, wird zubereitet aus 0,6 Grm. Karmin, welches in 2 Grm. kochendem Ammoniakwasser aufgelöst wird, worauf die Auflösung eine

---

[1]) *Tangl*: Ueber offene Communication zwischen den Zellen des Endosperms. — Pringsh. Jahrb. XII, 1880, p. 170.
Grenacher: Archiv f. mikr. Anatomie. 1879, p. 465.
Zeitschrift f. Mikroskopie. II. Jahrg. 1879, p. 55.

Stunde lang hingestellt wird, um einen Theil des Ammoniakgases weggehen zu lassen; man setzt darauf 60 Grm. dest. Wasser, 60 Grm. Glycerin und 15 Grm. absoluten Alkohol zu der Flüssigkeit; nach wiederholtem Stehenlassen wird die Flüssigkeit abfiltrirt und ist nun fertig.[1])

43) **Pikrokarminsaures Ammoniak** [Ranviers Pikrokarmin].

Dieses Färbemittel, welches namentlich von den Zoohistologen angewandt wird, wird in der botanischen Mikrochemie meist zum Zellkernfärben benutzt.[2]) Es wird zubereitet, indem man zu einer concentrirten, wässerigen Pikrinsäureauflösung eine starke Auflösung von karminsaurem Ammoniak bis zur Neutralisation hinzusetzt; nach dem Eindampfen auf $^4/_5$ des ursprünglichen Volumens, Abstehenlassen und Filtriren ist die dunkel-gelbrothe Flüssigkeit zum Gebrauch fertig.[3]) Eine andere Methode ist von Gage empfohlen worden: Gleiche Gewichtstheile Pikrinsäure und Karmin werden gelöst, jene in 100 Theilen Wasser, dieses in 50 Theilen concentrirtem Ammoniakwasser; diese Lösungen werden gemischt, filtrirt, zur Trockene eingedampft und in 100 Mal so vielem (nach Gewicht) Wasser gelöst. Das Protoplasma wird gelbroth gefärbt, die Kerne (auf alle Fälle häufig) dagegen mehr roth, namentlich nach der Ein-

---

[1]) *Frey*: Mikroskop, p. 90.

[2]) *Treub*: Actes du congrès international à Amsterdam, 1877; Leyden 1879; p. 146.

[3]) *Frey*: Mikroskop, p. 91.
Bachmann: Dauerpräparate, p. 27. — *Treub*: Rôle du noyau dans la division des cell. 1878, p. 23.
Pelletan: Le Microscope, 1870, p. 207.
Gage: Journal of the royal micr. soc. 1880, Vol. III, p. 501. — Ferner: American Micr. Journal, 1880, p. 22.

wirkung von kürzerer Dauer. Das Färbemittel kann am besten in der Verdünnung 1 : 100 angewandt werden.

Eine Behandlung mit Alkohol, Pikrokarmin und Eisessig (acid. acet. glaciale) empfiehlt Maupas zur Zellkernfärbung [Comptes rendus 1879, Nr. 4, Juli, p. 250].

44) **Haematoxylin.**

Das Haematoxylin [1]) ist der wirksame Bestandtheil im Campescheholzextract, wird aber nicht in grosser Menge in der Tinctura ligni Campeschiani gefunden. Es kann in völlig fertigem Zustand im Handel erhalten werden; das Färbemittel wird dargestellt durch Auflösen von 0,35 Grm. Haematoxylin in 10 Grm. Wasser, worauf man einige Tropfen einer Alaunauflösung [als „Beize“ zum Festhalten der Farbe], bestehend aus 30 Grm. Wasser und 3 Grm. Alaun, hinzufügt. Es entsteht dann eine schöne, violett gefärbte Flüssigkeit, welche die Zellkerne tiefblau färbt. Es ist das beste bisher bekannte Färbemittel für dieselben[2]). Die Präparate müssen einige Zeit darin liegen und können in Glycerin aufbewahrt werden. — Ich habe mich mit grossem Vortheil der ursprünglich von Koch vorgeschlagenen Färbemethode bei Bacterienstudien bedient. Das eingetrocknete Präparat wird mit einer concentrirten, wässerigen Auflösung von Campescheholzextrakt behandelt; nach dem Ausspülen des überflüssigen Farbstoffs mit dest. Wasser wird die Farbe mit verdünnter Chromsäure befestigt, und die Präparate

---

[1]) *Frey*: Mikroskop, p. 91.
Pelletan: Le Microscope, p. 209.
Ranvier: Histologie, p. 103. — *Robin*: Microscope, 1877; p. 250.
Bachmann: Dauerpräparate, p. 28. — *Schmitz*: Niederrhein. Gesellsch., November 1879.

[2]) *Johow*: Zellkerne d. höheren Monocotylen. Diss. Bonn, 1880; p. 9, Anm.

können nun nach wiederholtem Eintrocknen in Glycerin oder Canadabalsam aufbewahrt werden. Cilien und Zellkörper treten dabei sehr scharf hervor [Koch: Conserviren und Photographiren der Bacterien. Cohn: Beitr. z. Biol. d. Pfl. II, p. 421]. Koch hat später Färbung mit Haematoxylin anempfohlen; die stabförmigen Bacterien nehmen ihm zufolge jedoch nicht diese Farbe an [Wundinfectionskrankheiten 1878, p. 30]. Ich habe jedoch selbst bei gewissen stabförmigen Bacterien mit grossem Vortheil die Haematoxylintinction angewandt und nach Auswaschung die Präparate in lufttrockenem Zustand aufbewahrt.

45) **Eosin** [Tetrabromfluorescinsaures Kalium].

Diese prächtige, von der Phtalsäure abgeleitete, rosenrothe, stark grün fluorescirende Farbe wird in wässeriger Auflösung angewandt; selbst minimale Mengen des Stoffes besitzen intensive Färbekraft. [1])

Es ist zur Färbung von Sarcina und Sarcinoglobulus angewandt worden; zur Tinction von Bacterien (Bacillus, Bacterium u. a.) scheint es sich nicht zu eignen; in den Geweben höherer Pflanzen, wo seine Wirkung noch bei weitem nicht hinreichend untersucht ist, färbt es todtes Protoplasma schön rosenroth.

Zur Färbung des Plasmas der Siebröhren eignet sich das Eosin vortrefflich, ebenso wie zu Zellkernpräparaten. Das Eosin ist auch als erstes Imprägnationsmittel bei Doppelfärbungspräparaten angewandt worden, welche nachher mit Nicholsons Blau behandelt worden sind, mit absolutem Alkohol fixirt und in Dammar eingelegt. [Journal of the R. micr. Soc. Vol. III, 1880, p. 693.]

---

[1]) *Poulsen*: Om nogle mikroskopiske Planteorganismer. Nat. Foren. vidsk. Meddel. 1879—80, p. 235.

Mit Eosin gefärbte Präparate gestatten Aufbewahrung in Glycerin.

46) **Anilinfarben.**

Erst in der neueren Zeit haben Anilinfarben Eingang in die botanische Mikrotechnik gefunden, wo sie bereits an vielen Punkten mit grossem Vortheil angewandt werden können. [1])

a. **Anilinfuchsin** in alkoholischer Auflösung färbt namentlich die stark verdickten Zellmembranen, die verschiedenen Schichten oft mit verschiedener Stärke; die Schnitte, welche tingirt werden sollen, müssen kalifrei sein, da die Farbe sonst zerstört wird, und sie müssen in Alkohol behandelt werden, worauf ein Zusatz von Wasser den Farbstoff ausscheidet. Die gefärbten Präparate können, was auch mit den übrigen Anilinfarben der Fall ist, — nur auf begrenzte Zeit unverändert aufbewahrt werden; sie halten sich am längsten, wenn sie im Finstern liegen. [2])

b. Das Hanstein'sche **Anilinviolett** wird dargestellt durch Mischen von ungefähr gleichen Theilen Methylviolett und Anilinfuchsin und Auflösen in Alkohol. Die Wirkung beruht auf dem verschiedenen Vermögen, das die verschiedenen in den Geweben oder Zellen vorhandenen Stoffe für die Aufnahme der gemischten Farben haben.

Von dieser Anilintinctur wird das Protoplasma blauviolett gefärbt, Amyloidstoffe, Zellkerne und Gummiarten in verschiedenen Nüancen roth; die Kernhülle bläulich, Harze rein blau (in vielen Colleteren wird auch die Cuticula blau

---

[1]) *Wigand*: Botanische Zeitg. 1862, p. 17.
Hanstein: Organe der Harz- und Schleimabsonderung in den Laubknospen. Bot. Zeitg. 1868, p. 708.

[2]) Das „schwefelsaure Rosanilin" wird von *Salomonsen* zum Färben von Bacterien in faulendem Blut sehr anempfohlen. — Es wird in conc., wässeriger Auflösung, zubereitet durch Kochen und Filtriren nach der Abkühlung, angewandt. — Cfr. Studier over Blodets Forraadnelse. Kopenhagen. 1877, p. 15.

gefärbt), Gerbstoffe fuchsroth. Die Zellhaut wird schwach violett, stärker, wenn sie Holzstoff enthält, röthlich, wenn sie mehr gummiartig ist. Die eigentlichen Bastzellen werden stark röthlich gefärbt, Siebröhren und Weichbast nehmen keine intensive Farbe an, was besonders eine Hilfe beim Studium der Gefässstränge der Monocotyledonen ist.

c. **Methylviolett** [Violet de Paris. Methylviolett, Nr. B B B B B].

Als Färbemittel für Bacterien ist diese Farbe von Koch anempfohlen[1]), dessen Verfahren wir wiedergeben wollen.

Die Farbe wird so schnell von den Bacterien aufgenommen, dass wir hierin geradezu ein Reagens auf diese Organismen haben, wo von einer Verwechselung mit kleinen Fettkörpern oder ähnlichen, äusserst kleinen Kugeln die Rede sein könnte.

Von einer concentrirten, spirituösen Methylviolettauflösung werden einige Tropfen zu 15—20 Grm. destillirten Wassers hinzugesetzt, bis sich dieses intensiv gefärbt hat. Mit einer kleinen Pipette bringt man nun auf die Bacterienschicht, welche man färben will, ein Paar Tropfen, lässt sie darauf herumfliessen und giesst sie schliesslich ab, wenn man glaubt, dass die Farbe hinreichend kräftig geworden ist. Nach einiger Uebung wird man es bald erreichen, die Concentration der Färbflüssigkeit und die Dauer der Einwirkung richtig beurtheilen zu können. Wenn die Auflösung zu schwach ist, so löst sie die Bacterienschicht von der Glasplatte; ist sie zu stark, so färbt sie die Grundmasse, worin die Bacterien liegen, zu stark. Nach beendetem Färbungsprocess wird das Präparat mit destillirtem Wasser oder mit einer Auflösung von essigsaurem Kalium (1 : 10) abgespült.

---

[1]) *Koch:* Methoden zum Conserviren u. Photogr. d. Bacterien. — *Cohn:* Beitr. z. Biol. der Pfl. II, p. 406.

Nach halbstündigem Liegen an der Luft ist das Präparat zum Einlegen in Canadabalsam geeignet. Glycerin kann nicht angewandt werden, da es den Farbstoff auszieht. Sollen die Präparate photographirt werden, so müssen sie in essigsaurem Kalium (1 : 2) aufbewahrt und luftdicht zugekittet werden.

d. **Anilinbraun** [Triamidoazobenzolchlorid]. Wird in derselben Weise wie das Methylviolett angewandt[1]). Es eignet sich noch besser zum Photographiren als dieses, aber die Präparate müssen in Glycerin aufbewahrt werden, da die Farbe mit essigsaurem Kalium ausgezogen wird. Als Färbeflüssigkeit ist eine concentrirte Auflösung in gleichen Theilen Glycerin und dest. Wasser anzuempfehlen; die Farbe wird mit Glycerin weggespült.

e. **Anilingrün** (Methylgrün) ist von Hanstein zum Färben der Chlorophyllkörner, welche dadurch eine stark grüne Farbe von anderer Nuance als ihre natürliche annehmen, empfohlen worden.

Zum Zellkernfärben ist es anempfohlen von Treub[2]); Kerne, die nicht in Theilung sind, werden schwach grün gefärbt; in Theilungsstadien nehmen namentlich die sogenannten Kernplatten eine in die Augen fallende grüne Farbe an. In Verbindung mit 1 % Essigsäure ist es von Strasburger zu demselben Zwecke angewandt[3]).

Obenstehende Färbemittel sind die in der Mikrochemie am gewöhnlichsten und mit grösstem Vortheil angewandten. Es giebt noch einen Theil anderer, die zu verschiedenen Zwecken vorgeschlagen sind, die aber hier übergangen werden können.

---

[1]) *Koch*: l. c., p. 406.

[2]) *Treub*: Sur des cellules végétales à plusieurs noyaux. — Archives Néerlandaises, T. XV. 1880. p. 7 u. 17 des Separatabdruckes.

[3]) *Strasburger*: Zellbild. und Zelltheil. III. Aufl. 1880.

Anhang.

Ehe wir diesen Abschnitt abschliessen, wollen wir die wichtigsten der in der botanischen Mikroskopie zur permanenten Aufbewahrung der Präparate angewandten Einlegemedien besprechen.

Es ist selbstverständlich, dass man in vielen Fällen auf sich selbst angewiesen ist die für die betreffenden Präparate dienlichsten Stoffe herauszufinden; man kann nicht Alles aus Büchern lernen; aber es giebt gewisse Stoffe, welche sich besonders für eine Menge der verschiedensten Objekte eignen, und welche man daher stets zuerst und vornehmlichst versuchen muss.

1) Das **Glycerin** eignet sich vortrefflich zu beinahe allen botanischen Präparaten. Nur Florideen und Diatomeen müssen meist in anderen Medien aufbewahrt werden, die erstgenannten, weil ihre Membranen sehr häufig in diesem Stoffe stark aufquellen, namentlich wenn sie nicht im Voraus mit absolutem Alkohol durchaus entwässert sind; die letztgenannten, weil deren Struktur hierin nicht mit wünschenswerther Schärfe hervortritt. Auch Bacterien werden, namentlich in ungefärbtem Zustand, so klar in Glycerin, dass sie kaum wahrnehmbar werden können.

2) **Gelatinglycerin.** Dieser Stoff wird (zu Algenpräparaten) nach Nordstedt's[1]) Vorschrift so zubereitet: 1 Theil reine

[1]) Om användandet af gelatinglycerin vid undersökning og preparering af Desmidieer. — Botaniska Notiser, 1876, Nr. 2.

Gelatine wird in 3 Theilen kochenden, destillirten Wassers und 4 Theilen Glycerin aufgelöst. Durch Stehenlassen und Abkühlen ersteift die Masse; wenn sie benutzt werden soll, muss sie schwach erwärmt werden; um der Schimmelbildung vorzubeugen, wird ein kleines Stück Kampher oder ein Tropfen Karbolsäure zugesetzt.

Eine andere Vorschrift verdanken wir Kaiser[1]): 1 Gewichtstheil feinster, französischer Gelatine wird in 6 Theilen destillirten Wassers ca. 2 Stunden lang aufgeweicht. 7 Theile chemisch reines Glycerin werden hinzugesetzt, und zu 100 Grm. dieser Mischung wird 1 Grm. Karbolsäure gesetzt. Darauf wird die ganze Mischung 10—15 Minuten unter stetigem Umrühren erwärmt, bis die Flüssigkeit klar geworden ist, worauf man durch Glaswolle filtrirt.

Dieses Gelatinglycerin, welches in dünner Schicht vollständig wasserhell und durchsichtig ist, eignet sich zu allen solchen Präparaten, welche unbeweglich unter dem Deckglase liegen sollen, welche aber so klein sind, dass der Druck desselben sie nicht festzuhalten vermag; Pollenkörner, Amylum, Hefezellen, Sporen, besonders aber einzellige Algen z. B. Desmidiaceen, müssen in diesem Stoff eingelegt werden. Handelt es sich darum, die Struktur des Protoplasmas und die Anordnung der Chlorophyllkörper so weit als möglich zu wahren, so müssen die Pflanzen vorher erhärtet werden, was mit einer wässerigen Ueberosmiumsäurelösung (1 : 800) oder mit absolutem Alkohol geschehen kann. Nach dem Erhärten werden die Präparate erst in verdünntes Glycerin, darauf in Gelatinglycerin gebracht. Wenn dieses kalt geworden ist, werden die Deckgläser aufgekittet.

---

[1]) Botanisches Centralblatt, 1880. Nr. 1, p. 25.

Vergl. übrigens: Glycerin-Gelatine for Mounting. — Journ. of Royal micr. soc. Vol. III, 1880, p. 502.

3) **Chlorcalcium.** Eine wässerige Auflösung dieses Stoffes wird vielfach zu den verschiedensten Präparaten, Stärke ausgenommen, angewandt. 1 Theil Chlorcalcium und 3 Theile dest. Wassers nebst einer Spur Salzsäure (um späteres Krystallisiren der Flüssigkeit unter dem Deckglase zu verhindern) ist anempfohlen worden. Es sind indessen mit der Anwendung dieser Aufbewahrungsflüssigkeit so viele Unannehmlichkeiten verbunden, dass ich sie für die Zwecke der botanischen Mikroskopie lieber vermeide.

4) **Essigsaures Kalium.** Eine concentrirte, wässerige Auflösung wird zur Präparation von Algen, zu anatomischen Präparaten, sowie zur Aufbewahrung von in Methylviolett gefärbten Bacterien angewandt. Die Präparate müssen 24 Stunden liegen, ehe sie eingekittet werden.

5) **Canadabalsam** [Balsamum Canadense]. Dieser Stoff, welcher durch schwaches Erwärmen dünnflüssig wird, wird viel zum Einlegen von Diatomeen, deren feine Schalenstruktur hierin mit wünschenswerther Deutlichkeit hervortritt, angewandt. An Stelle des unvermischten Balsams kann man eine möglichst concentrirte Auflösung in Aether oder Chloroform, welche bei weitem reinlicher ist, anwenden. Nur solche Dinge eignen sich zur Aufbewahrung in Canadabalsam, welche nicht viel Wasser enthalten; sind die Objekte zart und wasserreich, so müssen sie vor dem Einlegen in absolutem Alkohol entwässert oder in der Luft getrocknet und erforderlichen Falls darauf mit Nelkenöl behandelt werden. Obgleich Canadabalsampräparate selbstverständlich nicht austrocknen können und sich nicht verschieben, wenn sie einmal kalt geworden und ersteift sind, so müssen sie doch zugekittet werden, da sonst selbst ein geringer Stoss das Deckglas leicht von dem Balsam sich ablösen lässt, ohne dass es dadurch abzufallen braucht; eine solche gänzliche oder theil-

weise Ablösung giebt sich schnell zu erkennen durch die zum Vorschein kommenden Newton'schen Farbenringe.[1])

Als **Verkittungsmasse** oder „Lack" für die fertigen Präparate ist eine grosse Menge Compositionen vorgeschlagen worden; nur wenige derselben scheinen mir wirklich Aufmerksamkeit zu verdienen, und ich will nicht unterlassen, an die kleine Abschweifung, die ich bereits mit den Einlegestoffen gemacht habe, noch ein Paar Bemerkungen über die Verschlussmittel anzuknüpfen. Man fordert von diesen, dass sie stark, luft- und wasserdicht auf Glas binden, dass sie sich nicht durch die Einwirkung der Einlegemittel verändern, und dass sie im Laufe der Jahre nicht Sprünge erhalten.

Die Verkittungsstoffe, welche ich aus eigener Erfahrung anempfehlen zu dürfen glaubte, sind Asphaltfirniss (kann in fertigem Zustand gekauft werden und besteht aus Asphalt, gelöst in Leinöl und Terpentinöl), prepared Goldsize (eine Art Copallack) und eine spirituöse Auflösung von Holmblad's bestem Siegellack (Kopenhagener Fabrikat). Alle diese Mittel müssen, ehe sie mit Hilfe eines weichen Pinsels auf die Präparate gebracht werden, eine passende, zähe Consistenz haben und dürfen nicht allzu schnell ersteifen. Die sicherste Verkittung wird erreicht, wenn man erst eine Schicht Asphaltfirniss auflegt und oben auf diese, wenn sie halb fest ist, die Siegellacklösung anbringt.

---

[1]) Litteratur über Aufbewahrungsmittel:
Dippel: Das Mikroskop, I, p. 470 ff.
Schacht: Mikroskop, 1855, p. 28.
Sanio: Botan. Zeitg., 1863, p. 359.
Koch: Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., II. Bd., p. 407.
Bachmann: Dauerpräparate, 1879.
Frey: Mikroskop, p. 122 und 125.
Harting: Mikroskop, III, p. 409.
Pelletan: Le Microscope, 1876, p. 178 ff.

Zum Schluss sei noch eine neue Composition erwähnt, die nach meinem Dafürhalten zu empfehlen sein dürfte. Wir haben sie hier im Kopenhagener Laboratorium geprüft und bis jetzt für gut erklären müssen. 50 grm. Canadabalsam, 50 grm. Schellack, 50 grm. Spiritus concentratus und 100 grm. Aether werden gemischt, filtrirt und zu dicker Syrupsconsistenz (im Wasserbade) eingedampft. Nach den Erfindern nenne ich diesen Lack den „Gram-Rützou'"schen.

Den von Deutschen anempfohlenen Maskenlack Nr. 3 sowohl wie Ziegler's Kitt und andere fremde Compositionen kenne ich nicht aus Erfahrung. Dagegen kann ich den sogenannten „Japanlack" empfehlen; namentlich scheint er mir als erstes Verschlussmittel (ganz wie Asphaltfirniss) sehr brauchbar.

Zum Aufsetzen der Etikette auf die Objektgläser lässt sich eine spirituöse Auflösung von Schellack anwenden, da Gummi und andere Klebstoffe nicht auf dem Glase binden.

Zweiter Abschnitt.

Die Pflanzenstoffe

und

die Methoden ihrer Nachweisung.

Der Leser wird ersucht, die Hauptlitteratur im ersten Abschnitt unter den verschiedenen Reagentien nachzuschlagen.

---

1) **Cellulose** [$C_6 H_{10} O_5$].

Die reine Cellulose wird durch Chlorzinkjod violett, durch Jod und Schwefelsäure blau, durch wässerige oder alkoholische Jodtinktur braun oder gelb bis gelb-braun gefärbt; oft wird sie schon durch Zusatz von Wasser zu den mit Jod eingetrockneten Membranen rein blau. Sie quillt in wässeriger Kaliumhydroxydlösung, sowie in den sogenannten Mineralsäuren auf, wodurch die Schichtung der Membranen ausserdem sehr oft mit weit grösserer Schärfe und Deutlichkeit hervortritt. Die Cellulose wird durch concentrirte Schwefelsäure unter Bildung von Amyloid gelöst; ohne Amyloidbildung löst sie Kupferoxydammoniak. Aus dieser Lösung kann sie wieder durch absoluten Alkohol gefällt werden.

Von den Anilinfarben wird die Cellulose mit ungleicher Intensität gefärbt; Alcanna und Karmin wirken dagegen nicht oder so gut wie nicht. Nach Erhitzung mit concentrirter Kaliumhydroxydlösung wird junge Cellulose von Kupfersulphat nicht gefärbt; in etwas älterem Zustande nimmt sie mit diesem Reagens eine schwach bläuliche Farbe an. — Das Grenacher'sche Alaunkarmin färbt Cellulose roth [Vgl. S. 44].

2) **Holzstoff** [Lignin].

Verholzte Membranen werden gelb durch Chlorzinkjod; durch concentrirte Schwefelsäure und Chromsäure werden sie

gelöst, was durch Kupferoxydammiak oder das Schultzesche Macerationsmittel nicht geschieht. Mit wässeriger Kupfersulphatlösung behandelt, nehmen sie oft bei nachfolgender Behandlung mit warmer concentrirter Kalilauge eine braune Farbe an. Mit einer wässerigen Lösung von schwefelsaurem Anilin (-Naphtalidin oder Toluidin) behandelt, werden sie bei nachheriger Durchtränkung mit verdünnter Schwefelsäure schön gelb (die Wiesner'sche Reaktion). Doch tritt die Reaktion oft ohne irgend welche assistirende Säure hervor. Mit Chlorwasserstoffsäure + Phloroglucin werden alle ligninhaltigen Membranen intensiv und sehr schön rosenroth; dieselbe Reaktion giebt auch dieselbe Säure und Kirschholzextract (Xylofilin Höhnel), jedoch mit mehr violetter Farbe, wogegen eine blau-grüne Farbe durch successive Behandlung mit Salzsäure und Karbolsäure auftritt.

Mit grosser Begierde werden alle Anilinfarben von den ligninhaltigen Membranen aufgenommen; das Grenachersche Alaunkarmin färbt dagegen nicht; auch ist eine schwache, wässerige Eosinlösung nicht im Stande, irgend eine Färbung in kurzer Zeit hervorzubringen, was auch von der reinen Cellulose gilt. Durch Kochen mit Alkalien, dem Schultze'schen Macerationsmittel und concentrirter Salpetersäure werden die sogenannten „inkrustirenden" Stoffe den verholzten Membranen entzogen, und hierauf lässt sich die Cellulosereaktion durch geeignete Mittel hervorrufen.

3) **Intercellularsubstanz** [„Mittellamelle"].

Unlöslich in concentrirter Schwefelsäure, Kupferoxydammoniak und verdünnter Chromsäure. Sehr schwer löslich in concentrirter Chromsäure. Löslich in Schultze'scher Macerationsflüssigkeit (was namentlich bei Holzuntersuchungen wichtig ist), sowie bisweilen in heisser Kalilauge, mitunter sogar schon in kochendem Wasser.

Die Intercellularsubstanz wird von den Anilinfarben leicht und stark gefärbt, nimmt mit Chlorzinkjod eine gelbe Farbe an und wird durch Behandlung mit heisser Salpetersäure + Ammoniak schön gelb.[1])

Vergl. Pektin (pag. 69).

4) **Korkstoff** [Suberin].

Unlöslich in concentrirter Schwefelsäure und Kupferoxydammoniak; sehr resistent gegen Chromsäure. Mit kochender Kalilauge behandelt, scheiden die verkorkten Membranen eigenthümliche, ockergelbe, körnige Massen aus, und bilden durch Kochen in Salpetersäure + Kaliumchlorat in Alkohol, Aether, Benzol und Chloroform lösliche Cerinsäuremassen.

Die Membranen der Korkzellen färben sich gelb mit Chlorzinkjod, werden aber durch das Grenacher'sche Alaunkarmin nicht geröthet.

5) **Pilzcellulose.**

Die chemische Zusammensetzung und Beschaffenheit der Membranen der Pilzhyphen ist noch nicht hinlänglich bekannt. Gewöhnlich zeigen sie nicht die Reaktionen der reinen Cellulose, selbst nicht nach Kochen mit Kali oder dem Schultze'schen Macerationsmittel. In concentrirter Schwefelsäure schwellen sie nicht oder unmerklich und werden weit schwieriger als die typische Cellulose zerstört, was namentlich von älteren Membranen gesagt werden muss. Für eine einzige Species ist es nachgewiesen, dass wiederholtes Kochen mit Kalilauge den Membranen einen Stoff

---

[1]) *Solla*: Beitr. zur Kenntniss d. chem. und phys. Beschaffenheit der Intercellularsubstanz. — Oesterr. botan. Zeitschr. 1879. November.
Höhnel: Mittellamelle der Holzelemente u. d. Hoftüpfelschliessmembran. — Bot. Zeitg. 1880. Nr. 26.

entzieht, worauf sie in Schwefelsäure und der Schultze-schen Flüssigkeit gelöst werden. In Kupferoxydammoniak scheinen die Hyphenmembranen der Pilze nicht löslich zu sein. Schliesslich werden einige dieser Membranen durch Jodtinctur allein blau oder violett gefärbt.

Die Paraphysen und Asci der Flechten werden in der Regel mit Jodlösungen blau; dasselbe gilt mitunter auch von den Hyphen des sogenannten Markgeflechts.

6) **Proteïnstoffe.**

Leicht charakterisirt durch die braune Farbe, welche ihnen das Jod verleiht, die rosenrothe, die sie namentlich bei gelinder Erwärmung durch das Millon'sche Reagens annehmen, und die gelbe, die bei Behandlung mit Salpetersäure [1]) (oder mit dieser und Ammoniak) hervortritt. Mit sublimathaltigem Alkohol bilden sie nach ca. 12-stündiger Behandlung eine in Wasser nicht lösliche Verbindung (was namentlich bei Präparation der Aleuronkörner von Interesse ist). Mit alkalischer Kupferoxydlösung (dem Trommer-schen Reagens) behandelt, werden die Proteïnverbindungen violett, mit Zucker und Schwefelsäure (Raspail'schem Reagens, 1833) roth. Die Aufnahme und Condensirung von verschiedenen, Farbstoffen, z. B. Kochenille, Karmin, wässerigem Anilinblau u. a., ist eine den Proteïnstoffen zukommende, charakteristische Eigenschaft. [2])

---

[1]) 1686 von *Glauber* entdeckt (Explicatio miraculi mundi).
Mulder hat der gelben Verbindung den Namen „Xanthoproteïnsäure" gegeben.

[2]) Vergl.: *Vines:* Chemical composition of the Aleuron-grains. [Royal Society of London, 1880, May 13. — Nature 1880, Vol. 22, Nr. 552, pag. 91. — Journ. of the Royal micr. soc. Vol. III, 1880, p. 667].

7) Protoplasma.

Weil dieser Körper aus verschiedenen Proteïnverbindungen zusammengesetzt ist, zeigt er uns die oben erwähnten Reaktionen. Lebendes Plasma ist nicht wie das todte im Stande, die eben besprochenen Farbstoffe aufzuspeichern. Mit Kaliumhydroxydlösung oder concentrirter Ammoniaklösung behandelt, wird es durchsichtiger, wogegen die Essigsäure die entgegengesetzte Wirkung hervorbringt. Absoluter Alkohol wirkt sehr charakteristisch, indem er nämlich das Plasma zum plötzlichen Erstarren bringt, was für verschiedene Untersuchungen über Plasmastruktur, Embryosackvorgänge, Kerntheilung und dergleichen von besonderer Bedeutung gewesen ist. Eine ganz ähnliche Wirkung hat eine wässerige Lösung von Ueberosmiumsäure, und zwar eine sehr verdünnte (1 : 800). Wässerige, nicht zu verdünnte Lösungen von Zucker, Chlornatrium, Alkohol, Glycerin u. a. ziehen den Protoplasmakörper der Zelle von der Wandung zurück, indem sie ihm Wasser entziehen und dadurch den Turgor theilweise aufheben, oft ohne dem Protoplasma zugleich das Leben zu rauben (vom nicht stark mit Wasser versetzten Alkohol gilt dies natürlich nicht; dieser wirkt immer tödtlich).

Das von Hanstein sogenannte Metaplasma[1]), d. h. das die organischen Stoffbildungskörper enthaltende Plasma, wird vom Hanstein'schen Anilinviolett fast scharlachroth gefärbt; das de Bary'sche Epiplasma[2]) (eine specielle Modification des Plasmas der Sporenschläuche der Ascomyceten) nimmt selbst mit sehr verdünnten Jodlösungen eine tief rothbraune oder violettbraune Farbe an.

Die mikrotechnische Präparation der in der neuesten Zeit so eifrig studirten Zellkerne hat von verschiedenen

---

[1]) Organe der Harz- und Schleimabsonderung; Bot. Zeitg., 1868, pag. 709.

[2]) Morphol. u. Phys. d. Pilze u. s. w.; Hofmeisters Handb., II, pag. 103.

Seiten wesentliche Bereicherung erfahren [1]. Essigsäure, Alkohol und Ueberosmiumsäure lassen sie mit grösserer Schärfe hervortreten und werden deshalb mit Vortheil da anwendbar sein, wo man die Kerne deutlich machen will. Farbstoffe werden in hohem Grade von den Kernen aufgenommen und condensirt; Behandlung mit solchen, namentlich mit Hämatoxylin, Anilingrün, Grenacher's Alaunkarmin und Karminlösung, sowie auch mit pikrokarminsaurem Ammoniak, lässt die Kerne tiefer gefärbt erscheinen als das Plasma der Zelle; ganz in derselben Weise wirkt das Jod. Successive Behandlung mit Alkohol, Pikrokarmin und Eisessig wird von Maupas empfohlen.

8) **Amylum** [Stärke, $C_6\ H_{10}\ O_5$]. [2]

Amylum wird blau mit Jodtinktur, Jodkalium und anderen Stoffen, welche freies Jod enthalten, indem die sogenannte Stärkecellulose nicht diesen Stoff aufzunehmen vermag, was dagegen mit der Granulose wohl der Fall sein dürfte. Das dadurch hervorgebrachte blaue, sogenannte „Jodamylum“ ist keine chemische Verbindung, sondern muss eher als eine (molekuläre?) Lösung des Jods in Granulose betrachtet werden. [3] Hierbei muss man sich aber eines

---

[1]) *Strasburger*, *Hanstein*, *Ranvier*, *Treub*, *Schmitz* u. a. haben sich hier grosse Verdienste erworben.

Vergl. übrigens: *Treub* in „Actes du congrès international des Botanistes etc. à Amsterdam en 1877. Leide, 1879“; pag. 146 ff — *Maupas* in Comptes rendus 1879, Vol. 88, Nr. 4, Juli; pag. 250.

[2]) *Walter Naegeli*: Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe, 1874.

[3]) Etwas anderes ist die durch längere Behandlung von Stärke mit Salzlösungen, welche einen Ueberschuss von freiem Jod enthalten, entstandene Verbindung, die auch durch Erhitzung zur Rothgluth noch c. 3 % Jod festhält; (vergl. Chemical News 1873, t. 28, pag. 248: *E. Sonstadt*: Note on the compound of starch with iodine).

erinnern, dass nämlich die Gegenwart von Wasser für die Reaktion eine conditio sine qua non ist; ohne Wasser kein Jodamylum. Trockene Stärke mit Joddämpfen, wasserfreiem Jodalkohol oder Jodchloroform behandelt, färbt sich wie Stärkecellulose nur braun.

Alle mit Jod sich direkt verbindenden Stoffe verfärben das Jodamylum wieder. Ein schwaches Erhitzen mit Wasser hat dieselbe Wirkung; bei darauf folgender Abkühlung kehrt die Farbe wieder zurück.

Durch langsame Erhitzung in Wasser quellen die Stärkekörner bedeutend auf, gewöhnlich, wenn die Temperatur 50° C. erreicht hat. Dadurch wird „Stärkekleister“ gebildet, welcher sich wohl im Wasser vertheilen kann, aber nie eine eigentliche, diffusible Lösung bildet. Der Kleister reagirt wie natürliche Stärke. Lösungen von Chlorcalcium, Chlorzink, Kaliumhydroxyd und concentrirtes Jodkalium, rufen, wie die Mineralsäuren, die Karbol-, Essig- und Trichloressigsäure, eine nach dem Concentrationsgrade stärkere oder schwächere Verkleisterung hervor. Der Anfang dieser giebt sich immer dadurch zu erkennen, dass die bekannte Schichtung der Körner deutlicher wird; namentlich wirkt verdünnte Chromsäure in dieser Weise; in den eigenthümlichen Amylumkörpern des Milchsaftes der Euphorbiaceen hat man durch dieses Mittel die Schichtung erkannt.

Eine entgegengesetzte Wirkung hat der absolute Alkohol; durch Behandlung mit diesem verschwindet die Schichtung oft vollständig. Kupferoxydammoniak bringt die Stärkekörner zum Schwellen und zwar bedeutend, jedoch ohne sie zu Kleister zu machen. Auch färbt dieses Reagens die Körner schwach blau.

Wie man die Stärke im Chlorophyll nachweisen kann, siehe S. 7.[1])

9) **Dextrin** [n C_6 H_{10} O_5].

Dieses Umbildungsprodukt der Stärke lässt sich durch das Trommer'sche Reagens in den Pflanzenzellen nachweisen (S. 33); der zinnoberrothe Niederschlag ist feinkörnig und zeigt die Brown'sche Molekularbewegung sehr deutlich (Cfr. Traubenzucker).

10) **Traubenzucker** [C_6 H_{12} O_6, — Dextrose, Glycose].

Kann durch das Trommer'sche Reagens nachgewiesen werden oder durch die Fehling'sche Flüssigkeit (S. 33); die übrigens nicht ganz sichere Reaktion zeigt sich als ein rothgelber Niederschlag von Kupferoxydul. Das Barfoed'sche Reagens[2]), nämlich Kochen mit einer wässerigen Lösung von neutralem, essigsauren Kupfer, giebt nach längerem Stehen einen rothen Niederschlag [was mit Dextrin nicht der Fall ist]. Bei normaler Temperatur giebt die Glycose einen Niederschlag mit neutralem, essigsauren Kupfer, wogegen das Dextrin sich lange Zeit hindurch klar hält.

---

[1]) In den Sporenschläuchen von Sphaeria Desmazierei Berk. giebt Crié einen von ihm entdeckten, neuen Stoff an, den er Amylomycin nennt, und von welchem er angiebt, dass er ganz dieselben Reaktionen wie Stärke haben soll. Der Vollständigkeit wegen nennen wir ihn hier; der genannte Forscher charakterisirt ihn aber so ungenügend, dass es gewiss gerechtfertigt sein wird, die Selbstständigkeit dieses Stoffes zu bezweifeln. [Vergl. Comptes rendus, Tome 88, pag. 759 u. 985].

[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. XII, pag. 27.
Sachsse: Farbst., Kohlenhydrate u. Proteïnsubst., 1877, p. 192. — Ich kenne das obengenannte Reagens nicht aus Erfahrung; es verdient aber hier erwähnt zu werden; man sieht oft, dass makrochemische Prüfungsmethoden sich mikrochemisch verwerthen lassen. V. A. P.

11) **Rohrzucker** [C_{12} H_{22} O_{11} H_2 O. — Saccharose].

Die diesen Stoff enthaltenden Zellen geben mit dem Trommer'schen Reagens keinen Niederschlag, nehmen aber eine reine, tief violette Farbe an. Wenn viel Saccharose in dem Gewebe vorhanden ist, kann sie mit absolutem Alkohol zur Krystallisation gebracht werden (S. 24).

[Siehe auch Kraus' Glycerinprobe, S. 26.]

12) **Inulin** [C_6 H_{10} O_5. — Sinistrin[1]), Synantherin].

Kommt, wie die eben besprochenen Zuckerarten, gelöst in dem Zellsaft vor. Wird inulinhaltiges Gewebe mit Alkohol oder Glycerin behandelt, krystallisirt das Inulin in Sphaerokrystallen aus, welche in Wasser von 50—55 ⁰ C., in verdünnten Säuren und Kupferoxydammoniak leicht löslich, in kaltem Wasser dagegen ganz unlöslich sind. Jodtinctur färbt die Sphaerokrystalle braun, indem sie in die feinen Spalten und Risse derselben eindringt. Durch Kochen mit verdünnten Säuren oder unter erhöhtem Druck verwandelt sich das Inulin in Levulose.

13) **Hesperidin** [Lebreton? Pfeffer].

Die in den meisten Säuren, in Glycerin und absolutem Alkohol, sowie in kaltem und siedendem Wasser unlöslichen Sphaerokrystalle des Hesperidins, lösen sich leicht und mit gelber oder röthlicher Farbe in wässeriger oder alkoholischer Kaliumhydroxydlösung, sowie, jedoch schwieriger, in

---

[1]) Mit dem in den Zwiebelschalen von Urginea Scilla auch unter dem Namen Sinistrin neuerdings von Prof. *Schmiedeberg* beschriebenen Kohlenhydrat derselben Formel nicht zu verwechseln. (Zeitschrift f. physiol. Chemie, 1879, p. 112. — Botan. Zeitg. 1879, pag. 513. — Journal of the Royal micr. society. Vol. II, 1879, pag. 916).

kochender, concentrirter Essigsäure, in Ammoniak und kohlensauren Alkalien.

Als Probeobject können unreife Orangen empfohlen werden. [1])

14) Gummi.

Sichere mikrochemische Reaktionen für Gummi kennen wir zur Zeit nicht. Die Gummiarten sind in Alkohol unlöslich, quellen in Wasser stark auf und werden mit Jod oder Jod + Schwefelsäure nicht blau. Gummöse Zellwände werden mit dem Hanstein'schen Anilinviolett roth.

15) Pflanzenschleim [2])



$[3\ (C_6\ H_{10}\ O_5) \div H_2\ O;$ oder $6\ (C_6\ H_{10}\ O_5) \div H_2\ O]$.

Mit diesem Namen werden verschiedene, in vielen Beziehungen nur wenig bekannte Stoffe bezeichnet, welche mit den Gummiarten nahe verwandt sind. Durch die gelbe oder blaue Farbe, welche sie mit Jod, die blaue oder violettbräunliche, welche sie mit Schwefelsäure und Jod annehmen, sind sie jedoch von jenen leicht zu unterscheiden. Viele derselben quellen beträchtlich in Wasser. Barcianu [3]) erwähnt als Reaktion die rothe Farbe, welche durch successive Behandlung der schleimhaltenden Gewebe mit Kreosot, Zinnchlorür und Anilin [?] entstehen soll.

---

[1]) *W. Pfeffer*: Hesperidin. — Botan. Zeitg. 1874, pag. 481.
Mika: Beiträge zur Morphol. u. mikroskop. Nachweisung des Hesperidins. [Magyar növenytany lapok, I, p. 93; ich kenne diese Arbeit nur aus Just's Jahresber.]

[2]) *Kirchner* u. *Tollens*: Untersuchungen über den Pflanzenschleim. — [Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 175, S. 205].

[3]) Blüthenentwickelung der Onagraceen. — *Schenk* u. *Luerssens* Mittheil. aus der Bot. II, 1. Heft, pag. 85. [Ich habe die Reaktion nicht selbst kennen gelernt. V. A. P.].

Das sogenannte Amyloid (Schleiden 1844) gehört sicherlich hierher. [1]) Leguminos-Amyloid färbt sich blau mit Jodalkohol, gelb mit Jodwasser und wird von verdünnten Alkalien und kochendem Wasser gelöst.

Das Hanstein'sche Anilinviolett färbt die Amyloidstoffe roth, aber mit einer von Gummi- und Gerbstoffreaktion verschiedenen Nüance. [2])

16) **Gerbstoff**

[C_{14} H_{10} O_9; — Gerbsäure, Acidum gallotannicum, Tannin].

Die diesen Stoff enthaltenden Zellen werden durch Behandlung mit Eisenacetat (S. 37) oder Eisenchlorid (S. 30) tief blau oder grün. Mit zweifach chromsaurem Kalium (S. 37) werden sie roth-braun, mit Hanstein's Anilinviolett (S. 48) fuchsroth und mit verdünntem Chlorzinkjod (S. 8) roth oder violett, — alles nach einigem Verweilen im Fluidum. [3])

17) **Pektin** [$n\ C_4\ H_6\ O_4 \mp p\ H_2\ O$].

Oft sind die Intercellularsubstanz oder gewisse Schichten der Membran in Pektinstoffe metamorphosirt.

Diese werden dadurch erkannt, dass sie in heissem Wasser und Alkalien aufquellen, dass sie ferner in diesen letztgenannten, sowie in concentrirter Oxalsäure (S. 22) löslich sind. Mit Cuoxamium (S. 15) wird pektinsaures Kupfer ge-

---

[1]) *Vogel* u. *Schleiden*: Amyloid. [In Schleiden's Beitr. z. Bot. I. Bd. 1844; VIII].

[2]) Vergl. ferner: *Léon-Marchand*: Gélatine produite par les Algues. — Bullétin de la soc. bot. de France, 1879, p. 287.

[3]) Nähere Auskunft über Gerbstoff in technischer Beziehung giebt: *Höhnel*: Die Gerberrinden. Berlin 1880. — Die sehr charakteristische Reaktion eines Galläpfeldekokts mit Eisen war schon Plinius bekannt und wurde im Alterthum verwendet, um Verfälschungen des Grünspans mit Eisenvitriol zu entdecken. Es ist dies überhaupt die allererste chemische Reaktion.

bildet, welches auf dünnen Querschnitten nach der vollständigen Lösung der übrigen Membrantheile zurückbleibt.

18) **Asparagin** [C_4 H_8 N_2 O_3. — Gleis (Hartig 1858)].

Unlöslich in absolutem Alkohol und concentrirter Asparaginlösung; löslich in Wasser; durch Eintrocknen oder Behandlung der Schnitte mit absolutem Alkohol schiessen Krystallnadeln von Asparagin in den Zellen oder in der sie umgebenden Flüssigkeit an. [Vergl. S. 25].

19) Krystalloide.[1])

Man versteht unter diesem Namen krystallisirte Proteïnstoffe; sie sind durch die Proteïnreaktionen, durch die Löslichkeit in Ammoniak, verdünnter Kalilauge und Essigsäure, ferner durch ihr Aufquellen in Wasser charakterisirt. In 10 % oder noch concentrirterer Kalilauge sind sie oft unlöslich, und es giebt auch solche, die in Chlornatrium löslich sind [S 29]. Als ein freilich nicht chemisches, jedoch immer bemerkenswerthes Kennzeichen, erwähnen wir ferner die Inkonstanz ihrer Winkel.

Speciell bemerkenswerth sind die rothen, schwach doppelbrechenden, tafelförmigen Krystalloide gewisser [in Herbarien und Glycerinpräparaten aufbewahrter] Florideen, die von Cramer sogenannten Rhodosperminkrystalle, die in Chlornatrium unlöslich sind und hier die Farbe verlieren.

Die in den Proteïnkörnern enthaltenen Krystalloide werden erst nach Behandlung mit warmem Glycerin deutlich wegen der hierdurch geänderten Lichtbrechungsverhältnisse.

---

[1]) *Schimper, A.*: Untersuchungen über die Proteïnkrystalloide d. Pflanzen. Strassburg, 1879.

Klein, J.: Krystalloide der Meeresalgen. Flora 1880, S. 65.

„ Cohn's Beiträge zur Biol. d. Pfl. III, 1880, p. 163. (Krystalloide in den Zellkernen von Pinguicula alpina).

20) **Kautschuk** [1]) [n C_5 H_8].

Kommt in dem Milchsaft verschiedener Pflanzen in Form kleiner, homogener Kügelchen vor, welche in ätherischen Oelen aufquellen, durch Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Benzol gelöst werden; dagegen werden sie von verdünnten Säuren und Alkalien nicht angegriffen.

21) **Chrysophansäure** [C_{15} H_{10} O_4 — Liebermann u. Fischer].

Die diese Säure enthaltenden Zellen werden durch Kaliumhydroxyd stark roth gefärbt.

Die Chrysophansäurekörnchen der Flechtenhyphen werden auch roth durch dieses Reagens, lösen sich aber darin auf; dagegen werden sie nicht gelöst, aber dennoch roth, durch Calciumhydroxydwasser oder Barytwasser. Ammoniumcarbonat giebt keine Farbe (Unterschied von Emodin). Salzsäure übt keine Wirkung. Bei gelinder Erhitzung reducirt die Chrysophansäure das ammoniakalische Silbernitrat. (Vergl. Schwarz: Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. III, 1880; p. 249.)

22) **Hypochlorin.** [2])

Ein in den Chlorophyllkörnern vorkommender, krystallisirbarer Stoff, welcher durch stundenlange Behandlung der Körner mit Chlorwasserstoff (oder, jedoch ohne ein so gutes Resultat zu erreichen, mit Pikrin-Salpetersäure) aus den Körnern herausschwitzt und sich dann als krystallinische Ausscheidung in braunen, ölartigen Tropfen zeigt oder in

---

[1]) *Weiss*: Allg. Bot. I, pag. 191.
Duchartre: Eléments de Bot., 1877, pag. 74.

[2]) *Pringsheim*: Untersuchungen über Chlorophyll; IV, Das Hypochlorin und die Bedingungen seiner Entstehung in der Pflanze. — Monatsber. d. Berl. Akad. Nov. 1879. [Vergl. ebenda, Juli, 1879; und Comptes rendus 1880, Jan., pag. 161].

zähen, halbflüssigen Massen auftritt, woraus sich nach Verlauf einiger Zeit nadel- oder stäbchenförmige Körper oder feine, gekrümmte Fäden ausscheiden.

In Wasser, Salzlösungen, verdünnten organischen oder mineralischen Säuren ist das Hypochlorin unlöslich; in Aether, Benzol, ätherischen Oelen und Schwefelkohlenstoff löst es sich leicht. Durch Erhitzung verflüchtigt es sich; grüne Zellen, welche bis 50 ° C. erwärmt worden sind, zeigen nach dieser Behandlung kein Hypochlorin mit Chlorwasserstoffsäure. Werden in ähnlicher Weise die mit dieser Säure schon hergestellten Hypochlorinnadeln in Wasser erhitzt, so verlieren sie ihre krystallinische Natur und ballen sich zu ölartigen Massen von einer mehr grünlichen Farbe zusammen.

23) **Fettes Oel.**

Stark lichtbrechende, sphärische Massen, die in kochendem Alkohol, in Aether, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Terpentinöl löslich sind; sie werden durch Kali- und Natronlauge verseift und nehmen durch nicht zu verdünnte Ueberosmiumsäure eine schwarze oder braune Farbe an.

Fettes Oel, welches mit dem Protoplasma sehr innig gemengt ist, kann durch concentrirte Schwefelsäure oder wässerige Chlorcalciumlösung ausgeschieden werden und sammelt sich dann in grösseren oder kleineren Tropfen, namentlich am Rande des Präparats.

24) **Flüchtige oder ätherische Oele.**

Zähe, bewegliche, lichtbrechende Massen, oft von langgestreckter Form. Sie sind löslich in kaltem Alkohol, sowie in den oben genannten Stoffen, wie die fetten Oele aber in Wasser unlöslich.

25) Harz.

Die das Harz am besten charakterisirende Reaktion dürfte wohl die rothe Farbe sein, welche es mit der Müller'schen Alkannatinctur annimmt [S. 41]; das Hanstein'sche Anilinviolett [S. 48] färbt es blau. Die Harzarten sind in Alkohol und Aether löslich, in Wasser unlöslich. Das Unverdorben-Franchimont'sche Reagens, eine wässerige Lösung von Kupferacetat (S. 38), färbt nach mehrtägigem Liegen grösserer Gewebemassen in der Flüssigkeit die Harztropfen schön smaragdgrün.

26) Wachs.

Bildet feste Krusten oder eigenthümlich geformte Ausscheidungen an der Oberfläche der Zellen. Unlöslich in kaltem wie siedendem Wasser, in letzterem aber schmelzend. Unlöslich oder schwer löslich in kochendem Alkohol, aber löslich in Aether, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

27) Kieselsäure [Bergkrystall, $Si\ O_2$].

Kommt sehr häufig als Inkrustationssubstanz der Zellmembran vor und kann folgendermassen nachgewiesen werden.

Ein sehr feiner Schnitt des zu prüfenden Gewebes wird auf Platinblech geglüht; hierdurch werden alle organischen Bestandtheile der Membranen gestört, und die aus Kalksalzen und Kieselsäure bestehenden unorganischen Elemente bleiben als ein etwas eingeschrumpftes Skelett zurück. Mittelst eines Tropfens Chlorwasserstoffsäure werden die Kalksalze entfernt, und man behält dann die Kieselsäure als ein in Fluorwasserstoff lösliches Netzwerk zurück.

Während des Glühens kann es sich ereignen, dass die Kieselsäure mit den Kalksalzen verschmilzt, wodurch die Reaktion wesentlich beeinträchtigt wird. Deshalb ist es nicht unzweckmässig, vor dem Ausglühen die genannten

Salze durch das Schultze'sche Macerationsverfahren auszuziehen; nach beendigtem Kochen in demselben werden die Schnitte mit kochendem, destillirten Wasser gereinigt; wird dann die Chlorwasserstoffsäure später zugesetzt, erhält man nur die Kieselsäure als Rest. Die Operation muss mit Vorsicht vorgenommen werden; wir empfehlen die Epidermis von Equisetum als Uebungsobject.

Eine etwas modificirte Methode ist von Prof. Sachs proponirt worden. Grössere Gewebemassen werden auf Platinblech mit einem Tropfen concentrirter Schwefelsäure übergossen und über einer Flamme erhitzt. Die Säure wird augenblicklich geschwärzt, und es entsteht eine heftige Gasentwickelung; man glüht, bis nur die reine weisse Asche zurück geblieben ist, was bei dieser Methode etwas schneller eintritt als bei der oben genannten.

28) **Kalksalze.**

Sind theils als unsichtbare, amorphe Substanzen in der Membran selbst inkrustirend vorhanden, und können dann in der Asche nachgewiesen werden, theils kommen sie als wohlentwickelte Krystalle vor, die entweder in der Membran selbst oder ausserhalb derselben gebildet sind. [1])

Die mikrochemischen Untersuchungen haben uns kohlensaures, oxalsaures, phosphorsaures und schwefelsaures Calcium in den Zellen gezeigt.

a) Die kohlensauren Calciumverbindungen werden unter heftiger Gasentwickelung durch verdünnte Säuren gelöst; hat man die Lösung mit Schwefelsäure vorgenommen, scheiden sich, wie bei den

---

[1]) *Holzner*: Beitr. z. Kenntn. der Pflanzenkrystalle. — Zeitschr. f. Mikroskopie, I, 1877, p. 236. — Hierin Litteraturverzeichniss.
van der Ploeg: De oxalsure Kalk in de Planten. Leiden 1879.

übrigen Calciumverbindungen, Gypsnadeln in der Flüssigkeit aus.

[Cystolithkörper; Corallina, Melobesia, Chara u. a.]

b) Das oxalsaure Calcium, die verbreitetste dieser Verbindungen in den Pflanzen, wird durch Kaliumhydroxyd oder Essigsäure nicht gelöst, ist in Salzsäure ohne Gasentwickelung löslich. [Kommt als inkrustirender Stoff in den Haaren bei Asclepias (Kabsch: Bot. Ztg. 1863), ausserdem als Raphiden, freie und Rosanoff'sche Krystalldrusen u. a. vor.]

c) Calciumphosphat[1]) ist in der neuesten Zeit als amorpher Körper in der Pflanze nachgewiesen. Unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Alkalien; löst sich ohne Gasentwickelung in Essig- und anderen Säuren. Die charakteristische Reaktion ist jedoch die in verdünnter, neutraler Silbernitratlösung entstehende gelbe Farbe.

[d) Schwefelsaures Calcium, Gyps. Unlöslich oder schwer löslich in Chlorwasserstoffsäure, Salpetersäure und Essigsäure. Werden die Krystalle dieses Salzes in eine wässerige Chlorbariumlösung gebracht, so bedecken sie sich bald mit einer körnigen Kruste aus Bariumsulfat.

Anmerkung. Das Vorkommen dieses Salzes im krystallis. Zustande in den Zellen ist zweifelhaft. *N. J. C. Müller* (Allgem. Bot. 1. Theil, 1880, p. 557) giebt es in Guajacholz an, während *Hanburg u. Flückiger* bei dieser Pflanze nur vom Calciumoxalat sprechen (Pharmacographia 1874, p. 94). *Naegeli* (Mikroskop, 1877, pag. 486) ist der Ansicht, dass es in der Zelle überhaupt gar nicht existire, und *Wiesner* (Techn. Mikroskopie, pag. 85) zeichnet die Zwillingskrystalle des Gypses aus dem Mesophyll von Iris. —]

---

[1]) *Nobbe*, *Hänlein* und *Councler*: Landwirthsch. Versuchsstationen, 23. Bd., p. 471. (Robinia Pseudacacia, Soya hispida).

29) **Eisen.**

Das Eisen hat man in der Zellmembran selbst nachweisen können.[1]) Die Schnitte müssen mit einem Platin- oder Silbermesser angefertigt und dann mit einer alkoholischen Rhodankaliumlösung (S. 37) behandelt werden; eine dadurch oder jedenfalls nach Behandlung mit Chlorwasserstoffsäure hervortretende rothe Farbe deutet auf eine Eisenoxydverbindung hin; tritt keine Reaktion auf, werden die Schnitte mit Chlorwasser oder Salpetersäure sammt Rhodankalium (S. 37) behandelt, wodurch sich die Eisenoxydulverbindungen, falls sie vorhanden sind, oxydiren und sich durch dieselbe rothe Farbe nachweisen lassen.

30) **Schwefel.**

Ist im reinen, krystallinischen Zustande bisher nur in den schwefelwasserstoffbildenden, in den Thermen oder in vermodernden Meeresalgen lebenden Bacterien gefunden.

Der Schwefel ist in Schwefelkohlenstoff löslich; über die violette Reaktion mit Nitroprussidnatrium in alkalischer Flüssigkeit siehe Seite 36. Mit wässeriger Lösung von Ueberosmiumsäure giebt der Schwefel keine Reaktion, wodurch er sich mikrochemisch leicht von den fetten Oelen unterscheidet, mit welchen die optische Aehnlichkeit oft keine geringe ist.

---

[1]) *Weiss u. Wiesner*: Sitzungsber. der Wiener Acad. 1860, XL. Bd. Cfr. Botan. Zeitg. 1860, pag. 357.

Farbstoffe.[1]

a) An Protoplasma gebunden.

31) **Das Chlorophyll** [Blattgrün].

Grün. In Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich; in Aether, Benzol und Alkohol dagegen löslich. Wird durch Labarraque's Flüssigkeit gebleicht; durch Behandlung mit verdünnten Säuren nimmt es eine gelbliche Farbe an; concentrirte Chlorwasserstoffsäure und Schwefelsäure machen es blaugrün oder blau.[2]

Durch Methylgrün (S. 50) werden die Chlorophyllkörper intensiver grün und durch anhaltende Behandlung mit Chlorwasserstoffsäure scheiden sie Hypochlorinmassen aus (S. 71). Nach Pringsheim können folgende Farbstoffe als Modification des Chlorophylls angesehen werden:

a) **Etiolin**, der gelbe Farbstoff etiolirter Pflanzentheile. In Alkohol und Aether ist er löslich, und diese Lösung färbt sich smaragd- oder spangrün, später, oft nach Stunden, blau durch Chlorwasserstoff- oder Schwefelsäure; das Etiolin ist im Wasser unlöslich.

b) **Xanthophyll** (Berzelius, Pringsheim), der gelbe Farbstoff der herbstlichen Blätter der Laubhölzer. In Alkohol und Aether löslich, in Wasser unlöslich. Wird nur smaragdgrün durch die oben genannten Säuren.

c) **Anthoxanthin** (Marquart, Pringsheim; „Blüthengelb"). Der gelbe Stoff in gelben Blumen, Früchten

---

[1]) *Naegeli*: Mikroskop, 1877, pag. 528. — Vergl. übrigens das Litteraturverzeichniss der Pflanzenfarbstoffe auf S. XVI der Einleitung.

[2]) *Bommer* ist der Meinung, es rühre dies vielleicht daher, dass ein Vorhandensein von Indican im Chlorophyll sich dadurch kundgebe. [Bull. de la soc. bot. de France. 1873. Session extraordinaire].

und Samenkörnern. Kommt, wie das Chlorophyll, als eine an (gelbe) Protoplasmakörper gebundene Substanz vor, seltener als gelbe ölartige Tropfen, noch seltener an Zellsaft gebunden. Diese letztere Varietät (Anthochlor, Prantl; Xantheïn, Frémy) ist in Wasser löslich, die übrigen dagegen hierin unlöslich, in Aether und Alkohl aber löslich. Die in diesen Reagentien löslichen Anthoxanthinstoffe (Xanthin, Frémy; Luteïn, Thudichum) werden, wie das Xanthophyll, grün, aber später, wie das Etiolin, durch Säuren blau gefärbt, was mit den in Wasser löslichen dagegen nicht der Fall ist. Das Anthochlor wird mit Kaliumhydroxydlösungen braungelb, bei Neutralisation kehrt die ursprüngliche Farbe wieder zurück.

d) **Florideen-Grün** (Pringsheim). Das Chlorophyll der Florideen, welches dieselben chemischen Reaktionen wie das „echte" Chlorophyll der höheren Pflanzen zeigt, ist wegen seiner optischen Eigenschaften nach Pringsheim als eine Varietät desselben anzusehen.

e) **Florideen-Roth** (Phycoërythrin, Kützing, Cohn); in Wasser löslich und kann somit hierdurch aus dem todten Plasmakörper ausgezogen werden. Beim Stehen im Lichte unter Luftzutritt verfärbt es sich, was auch durch Behandlung mit Kaliumhydroxydlösung zu beobachten ist. Schwefelsäure ändert die Farbe nicht [1]).

Anmerkung: Um die genannten Farben recht kennen zu lernen, ist es nothwendig, sie einer spectralanalytischen Untersuchung zu unterwerfen. Vergl.: *R. Sachsse*: Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteïnsubstanzen. Leipzig, 1877.

---

[1]) *Naegeli* und *Schwendener* (Mikroskop, 1867, p. 498) verstehen unter „Florideen-Roth" die gesammte Farbstoffmasse der Florideen:

32) **Phycochrom**

[Sachsse = Naegeli's Phycochrom ÷ Chlorophyll].

Ein mit Chlorophyll in den blaugrünen Algen vorkommender Farbstoff, welcher in Wasser löslich ist, in Alkohol unlöslich, und wahrscheinlich aus Phycocyan (Sachsse)[1] (Algenblau) und wechselnden Mengen von Phycoërythrin (Kützing) besteht. Phycochromhaltige Zellen werden durch Alkalien gelbgrün-gelbbraun, durch Chlorwasserstoffsäure orange bis ziegelroth gefärbt.

33) **Palmellin** [Phipson][2],

der bei Porphyridium cruentum Naeg. vorkommende rothe Farbstoff. In Wasser löslich; in dieser Lösung rufen Alkohol und Essigsäure fadenförmige Ausscheidungen hervor, was auch mit Alkalien der Fall ist, wobei sich aber die Flüssigkeit blau färbt. Schwefelammonium macht sie gelb ohne Ausscheidungen.

34) **Phycoxanthin** [Millardet, Askenasy]

ist die gelbe, in Alkohol leichter als Chlorophyll lösliche Substanz der Bacillariaceen und Fucaceen. Bei den erstgenannten bildet sie mit dem Chlorophyll die gelbbraune Endochrommasse[3]) und ist hier wohl auch Diatomin

---

Chlorophyll + Phycoërythrin. *Sachsse* nimmt den Namen in der Kützing'schen Bedeutung; ich thue hier dasselbe. Kützing's Phycohaematin (aus Rhytiphloea tinctoria), welches noch genauer untersucht werden muss, übergehe ich.

[1]) *Kützing's* Phycocyan ist der in Wasser lösliche Farbstoff der Oscillarien.

[2]) Comptes rendus, 1879, Août, Nr. 5, pag. 316.
Schnetzler: Bull. de la soc. Vaudoise des sc. nat. 2. Sér. Vol. 15.

[3]) *Petit*: De l'Endochrome des Diatomées. — Brébissonia, II année, 1880, Nr. 7, p. 81. — Die Zusammensetzung des Endochroms wurde 1868 durch Kraus und Millardet dargethan.

(Naegeli 1849) genannt worden. Aus dem Thallus der Fucaceen wird sie leicht mit 40 % Alkohol ausgezogen, wodurch das Chlorophyll sich nicht extrahiren lässt. Durch geringe Säuremengen wird das Phycoxanthin blaugrün; Alkalien haben, wie das Licht, [1]) keine erhebliche Wirkung.

35) **Phycophaein** [Millardet].

Braun. In Wasser löslich, in Alkohol nicht. Nähere Untersuchungen wünschenswerth. Kommt im Fucaceenthallus mit Chlorophyll und Phycoxanthin gemengt vor.

b) An Zellsaft gebunden.

[Anthoxanthin; über eine gewisse Form siehe S. 77.]

36) **Anthocyan** [Marquart; Kyanin Frémy & Cloez].

Der blaue Farbstoff vieler Blumen. Das den rothen und violetten Zellsäften eigenthümliche „Erythrophyll" ist wahrscheinlich identisch damit oder nur eine Modification davon. Durch Säure werden anthocyanhaltige Zellen roth, Alkalien machen sie wieder blau (ganz wie es mit Lakmus der Fall ist); wirken die Alkalien längere Zeit hindurch, wird die blaue Farbe in eine grüne, gelbgrüne oder gelbe übergeführt. Doch ist die Meinung geäussert worden, dass diese letztgenannten Nüancen mittelst eines im Zellsaft vorhandenen, Eisen grünenden Gerbstoffes hervorgebracht werden sollen, dessen gelbe Kaliumhydroxydreaktion die Farbenmischung hervortreten lassen soll. [2])

---

[1]) Vergl. jedoch *Petit* l. c.

[2]) Hiermit sind jedoch die Einwendungen Sachsse's zu vergleichen. L. c. p. 76.

Bei Strelitzia Reginae und Tillandsia amoena fand Hildebrand das Anthocyan an kleine in Kali, Alkohol und Ammoniak lösliche, durch Jod braun werdende Kugeln von wahrscheinlich protoplasmatischer Natur gebunden.

Es verdient zweifelsohne hier bemerkt zu werden, dass das Anthocyan mit Metalloxydsalzen eine unlösliche grüne (Frémy & Cloez) oder blaue (Wiesner) Verbindung eingehen kann. Gewisse anthocyanhaltige, mit Säuren erst geröthete, aber von freier Säure durch Ausspülen mit destillirtem Wasser wieder befreite Zellen (Gentiana verna) nehmen mit Eisenchloridlösung eine blaue Farbe an; weil dasselbe Phänomen mit essigsaurem Blei auftritt, kann hier von Gerbsäure nicht die Rede sein.

37) **Der Krappfarbstoff** [1])

bildet gelbe Massen in den frischen Zellen der Krappwurzel. Beim Luftzutritt wird er bald roth und flockig und geht in die Membranen über. Kaliumhydroxydlösung färbt ihn purpurn und lässt ihn in das umgebende Medium austreten; durch Eisenchlorid wird er orange und zuletzt braunroth. Alkohol löst den frischen, gelben Farbstoff, nicht aber den durch Luftzutritt gerötheten.

c) An die Membranen gebunden.

38) **Die Farbstoffe der Farbhölzer** [Fernambuk, Brasilienholz, Sandelholz]

kommen sowohl im Zellinhalt als auch in den Membranen, namentlich in der Mittellamelle vor; es ist nicht unwahr-

[1]) *Decaisne*: Recherches anat. und physiol. sur la Garance et le développement de sa matière colorante. 10 pl. — Bruxelles. 1837.
Rosenstiehl: Ann. d. Chem. et de Phys., 5 sèr.; tome XIII, pag. 148.

scheinlich, dass sie erst später in die Membranen aufgenommen worden sind.

Diese Farbstoffe sind in warmem Wasser und Glycerin, in Säuren und Alkalien löslich. „Alkalien lösen den Farbstoff sehr leicht, und zwar entweder mit karminrother oder violetter Farbe, Alkohol und Aether geben entweder eine farblose (Fernambuk, Kamholz) oder gelbe, orange oder karmin gefärbte Lösung. Glycerin und Wasser lösen mit karminrother, seltener blutrother oder braunrother oder violetter, Kupferoxydammoniak mit violetter, seltener mit blauer, Essigsäure mit gelber Farbe; Schwefelsäure entweder gar nicht (Sandelholz) oder mit karmin- oder blutrother Färbung." [Weiss, Allg. Bot. I, p. 137.]

Der Farbstoff der Pterocarpusarten ist ausnahmsweise auch im heissen Wasser nicht löslich.

39) Der Farbstoff der Berberis-Wurzel

ist gelb und kommt in den Membranen der Gefässe, Holzzellen, der Markstrahlen des Phloëms und der äussersten Rindenzellen vor. Er wird ausserdem im Zellinhalt aller Gewebesysteme, mit Ausnahme der Schraubengefässe, gefunden.

Verdünnte Säuren bewirken erst eine Ausscheidung kleiner, gelber Tropfen, welche Molekularbewegung zeigen; kochende Kaliumhydroxydlösung ruft eine braungelbe Farbe hervor; Glycerin und Wasser lösen den Stoff. Eingetrocknete Schnitte werden durch Wasser schnell extrahirt; in dieser gelben Flüssigkeit bringt Chlorwasserstoffsäure gelbe, oft strahlenförmige Aggregate von chlorwasserstoffsaurem Berberidin hervor.

40) Gloeocapsin.

Ein rother oder blauer, bei Gloeocapsa und einigen fadenförmigen Algen in der Membran vorkommender Farb-

stoff, welcher durch Chlorwasserstoff rosa oder braunroth, durch Kalilauge blau oder violett wird.

41) **Scytonemin.**

Ein in den Membranen vieler Phycochromaceen vorkommender, gelber oder brauner Farbstoff, welcher durch Salzsäure spangrün, durch Alkalien wieder gelb wird.



Druck von [illegible] in Cassel

Date Due


QK673.P88
SCIII
3 5002 00022 0892
Poulsen, Viggo Albert
Botanische Mikrochemie : ein Anleitung z

